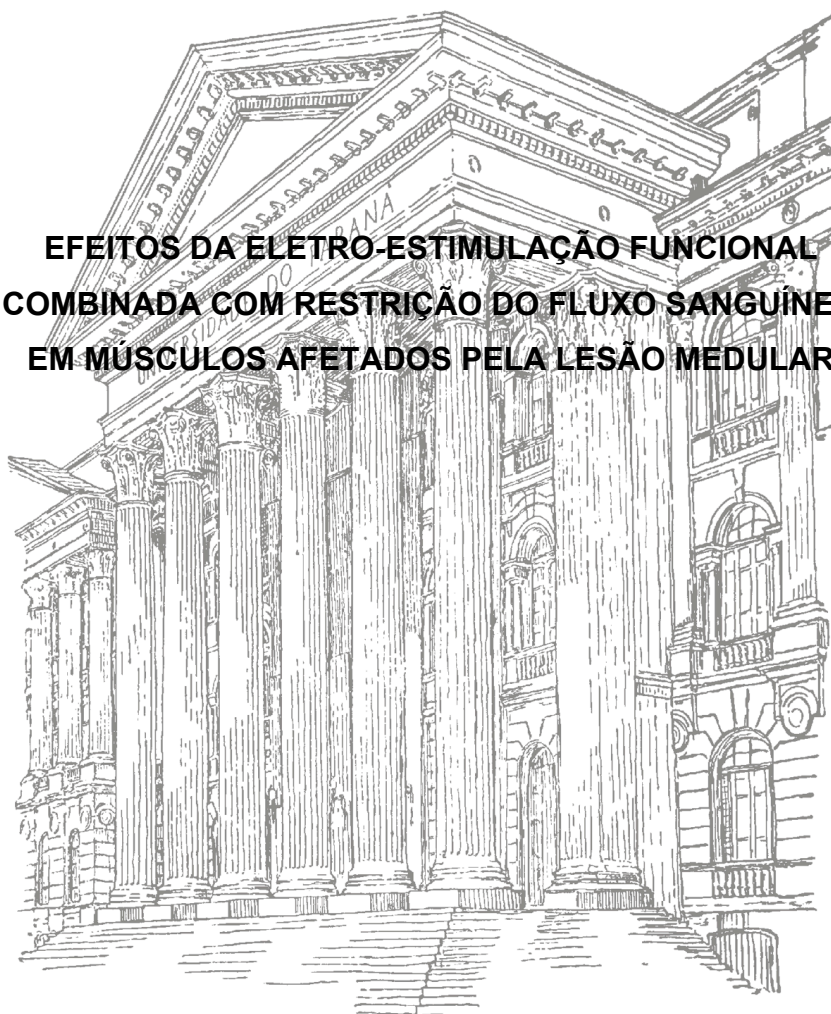


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA



SÉRGIO LUIZ FERREIRA ANDRADE

**EFEITOS DA ELETRO-ESTIMULAÇÃO FUNCIONAL
COMBINADA COM RESTRIÇÃO DO FLUXO SANGÜÍNEO
EM MÚSCULOS AFETADOS PELA LESÃO MEDULAR**



CURITIBA
2016

SÉRGIO LUIZ FERREIRA ANDRADE

**EFEITOS DA ELETRO-ESTIMULAÇÃO FUNCIONAL
COMBINADA COM RESTRIÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO
EM MÚSCULOS AFETADOS PELA LESÃO MEDULAR**

**Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Doutor em
Educação Física do Programa de Pós-
Graduação em Educação Física, do Setor
de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. André Luiz Félix
Rodacki**

Co-orientador: Prof. Dr. Eddy Krueger

**Curitiba
2016**

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Andrade, Sérgio Luiz Ferreira
Efeitos da eletroestimulação funcional combinada com restrição do
fluxo sanguíneo em músculos afetados pela lesão medular. / Sérgio Luiz
Ferreira Andrade. – Curitiba, 2016.
84 f.: il. ; 30cm.

Orientador: André Luiz Félix Rodacki
Co-orientador: Eddy Krueger

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências
Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

1. Traumatismos da Medula Espinal 2. Atrofia muscular 3. Estimulação
Elétrica 4. Hipertrofia I. Título II. Rodacki, André Luiz Félix III. Krueger,
Eddy IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas.
Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

CDD (20. ed.) 615.845



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Educação Física



TERMO DE APROVAÇÃO

SÉRGIO LUIZ FERREIRA ANDRADE

“Efeitos da eletro-estimulação funcional combinada com restrição do fluxo sanguíneo em músculos afetados pela lesão medular”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Educação Física – Área de Concentração: Exercício e Esporte; Linha de Pesquisa: Atividade Física e Saúde; do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. André Luiz Felix Rodacki
Presidente / Orientador - UFPR

Prof.ª Dr.ª Anna Raquel Silveira Gomes
Membro Interno

Prof. Dr. Gleber Pereira
Membro Interno

Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch
Membro Externo

Prof. Dr. Martim Francisco Bottaro Marques
Membro Externo

Curitiba, 29 de Julho de 2016.

Ao meu pai, Álvaro (in memoriam), que me ensinou a ser forte até o seu último dia de vida, quando esta tese estava sendo escrita ao lado do seu leito no hospital. Seu descanso foi merecido.

À minha esposa Camile, minha referência de caráter, inteligência, competência e humanidade, com quem tenho a sorte de construir uma linda história de amor. Com você ao meu lado, as conquistas tornam-se maiores, e os obstáculos, menores.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Maria Alzira, pelo imenso amor e dedicação investidos à família. Movida por amor, é uma verdadeira guerreira diante das dificuldades da vida.

Ao Prof. Dr. André Rodacki, pela imensa paciência e compreensão que demonstrou ter tido comigo durante meu doutorado, e por toda e qualquer contribuição que foi destinada ao meu crescimento acadêmico, desde meu mestrado. Reconheço que nunca consegui retribuir à altura o seu apoio.

Aos professores doutores Carlos Ugrinowitch, Rinaldo Guirro, Paulo Bento e Gleber Pereira, pelos valiosos apontamentos e críticas construtivas na qualificação do projeto, que foram indispensáveis para o enriquecimento científico desta tese.

Ao Prof. Dr. Eddy Krueger, pela sólida co-orientação no desenvolvimento neste trabalho e, acima disso, pela amizade e pelo exemplo de determinação com que busca seus objetivos pessoais. *Vielen dank*.

Ao Prof. Mestre Gabriel Skiba, pela parceria e pelo senso de humor inteligente, sem o qual seria impossível enfrentar as singularidades do curioso mundo acadêmico.

Aos amigos: Ricardo, Camila, Taís, Rodrigo Prado, André Brauer, Jussara e a todos os colegas da Unibrasil, que de alguma forma tornaram e ainda tornam meu convívio mais feliz. Obrigado por compreenderem meu visível cansaço nos últimos meses do doutorado.

Ao competente secretário do Programa da Pós-Graduação, Rodrigo Waki, sempre muito educado, inteligente e atencioso nos atendimentos, além de ter um ótimo senso de humor. Estou certo de que um agradecimento a você deveria ser obrigatório, no regimento deste Programa.

Ao Prof. Dr. Fernando Cavichioli, pelos exemplos da sua marcante humildade, que nos fazem refletir sobre os verdadeiros valores humanos. Pelos constantes incentivos dados a mim e à Camile nas nossas carreiras acadêmicas, além das conversas sempre muito bem-humoradas, é claro.

A todos os cadeirantes que tornaram possível este trabalho, meu especial agradecimento. Cada uma de suas histórias de vida foi um aprendizado para mim.

Aos fisioterapeutas do Hospital de Reabilitação Ana Carolina Moura Xavier, pela ajuda no encaminhamento de pacientes para a minha pesquisa e, em especial, ao Sr. Irajá Vaz, que gentilmente conduziu todos os trâmites burocráticos que possibilitaram o uso do espaço dentro do Hospital para as coletas de dados e o treinamento.

Ao Sr. Clodoaldo Zafatoski, por ter gentilmente autorizado a condução da pesquisa e a utilização do espaço físico na Associação dos Deficientes Físicos do Paraná.

À Mayara (Unibrasil), ao Benny (UFPR) e ao Gabriel (UFPR), que acompanharam o trabalho braçal da pesquisa, além de compartilhar comigo as dificuldades e frustrações inerentes à qualquer experimento.

À Camile, minha companheira de vida, ao lado de quem tenho muito mais prazer em construir meus sonhos, desfrutar as minhas conquistas e compartilhar as vitórias. Sem o seu incentivo e apoio, este trabalho não teria sido concluído. Te amo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ABREVIACÕES.....	XII
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT	XIV
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	4
2.1 OBJETIVO GERAL	4
2.2.1 Objetivos específicos.....	4
2.2 HIPÓTESES.....	4
3 REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1 Lesão medular	6
3.2 Alterações na composição corporal após a lesão medular.....	7
3.2.1 Atrofia muscular.....	7
3.2.2 Aumento da quantidade de gordura intramuscular.....	8
3.2.3 Diminuição da densidade mineral óssea	9
3.3 Efeito da eletro-estimulação funcional (EEF) nos músculos paralisados	10
3.4 Efeitos do treinamento com RFS na massa muscular	13
3.4.1 Potenciais mecanismos das respostas crônicas ao treinamento com restrição do fluxo sanguíneo (RFS)	17
3.4.1.1 Aumento do recrutamento das fibras musculares	18
3.4.1.2 Aumento da liberação aguda hormônio do crescimento (GH).....	18
3.4.1.3 Inibição da miostatina	19
3.4.1.4 Inchaço celular.....	20
3.4.1.5 Espécies reativas de oxigênio	21
3.5 Edema muscular induzido pelo exercício.....	22
4 MÉTODOS.....	25
4.1 Amostra.....	25
4.2 Procedimentos experimentais.....	29
4.3 Medição da espessura muscular (EM) e intensidade do eco.	29

4.4	Medição da concentração aguda de lactato	33
4.5	Aplicação da restrição do fluxo sanguíneo (RFS).....	33
4.6	Protocolo de eletro-estimulação funcional	35
4.7	Tratamento estatístico.....	36
5	RESULTADOS	38
6	DISCUSSÃO.....	45
6.1.	Efeitos agudos	45
6.2	Efeitos crônicos.....	51
7	CONCLUSÕES.....	60
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
	REFERÊNCIAS	63
	APÊNDICE 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	82
	ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Recrutamento e aleatorização dos grupos.....	26
FIGURA 2 – Etapas dos procedimentos experimentais.....	27
FIGURA 3 – Ultrassom portátil GE Logiqbook® XP e transdutor linear de 11 mhz, modelo 8L.....	30
FIGURA 4 – (a) Referências anatômicas para a marcação da pele em 20%, 50% e 70% do comprimento da coxa.....	31
FIGURA 5 – Histograma da intensidade do eco dentro da área selecionada (retângulo amarelo) no sítio médio da coxa (50%).	32
FIGURA 6 – Lactímetro portátil e lancetador automático.....	33
FIGURA 7 – Esfigmomanômetro de coxa	34
FIGURA 8 – Doppler vascular	34
FIGURA 9 – Eletro-estimulador portátil.....	35
FIGURA 10 – Concentrações de lactato imediatamente antes (BASAL) e 3 minutos após o término da última série (AGUDO).....	39
FIGURA 11 – Espessura muscular aguda imediatamente antes (BASAL) e 5 minutos após o término da última série (AGUDO).....	40
FIGURA 12 – Intensidade do eco no sítio médio da coxa (50% do comprimento) nos grupos EEF+RFS (roxo) e EEF (cinza), imediatamente antes do início da sessão (BASAL) e 5 minutos após o término da última série.....	40
FIGURA 13 – Espessura muscular crônica dos grupos EEF+RFS (roxo) e EEF (cinza) antes do início do treinamento, ao final da 4 ^a . e 8 ^a . semanas (PRÉ, INT e PÓS, respectivamente) e após 3 semanas de destreinamento (DES).	43
FIGURA 14 – Intensidade do eco no sítio médio da coxa (50% do comprimento) nos grupos EEF+RFS (roxo) e EEF (cinza), nas coxas antes do início do treinamento, ao final da 4 ^a . e 8 ^a . semanas (PRÉ, INT e PÓS, respectivamente) e após 3 semanas de destreinamento (DES).....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Características individuais dos participantes do estudo.....	28
TABELA 2 - Valores absolutos das variáveis agudas nos grupos que treinaram com eletro-estimulação combinada com restrição do fluxo sanguíneo (EEF+RFS) ou somente eletro-estimulação (EEF), nos instantes imediatamente antes do início (BASAL) e após (AGUDO) o término da sessão.....	39
TABELA 3 - Valores absolutos das variáveis crônicas nos grupos que treinaram com eletro-estimulação combinada com restrição do fluxo sanguíneo (EEF+RFS) ou somente eletro-estimulação (EEF), nos instantes imediatamente antes do início (PRÉ), ao final da 4a. semana (INT), ao final da 8a. semana (PÓS) e após 3 semanas de destreinamento (DES).	42

LISTA DE ABREVIACÕES

EM = espessura muscular

EEF = eletro-estimulação funcional de baixa intensidade

PRÉ = coleta antes do início do exercício ou treinamento

INT = coleta intermediária (4^a semana)

PÓS = coleta após o término do exercício ou treinamento

AST = rea de secção transversa

mTOR = *mammalian target of rapamycin*

DMO = densidade mineral óssea

GH = *growth hormone*

IGF-1 = *Insulin-like growth factor*

RESUMO

A atrofia muscular é uma das consequências mais evidentes da lesão medular, como resultado da imobilidade crônica. Os efeitos deletérios da lesão medular em grandes grupos musculares podem levar a efeitos secundários, tais como intolerância à glicose, aumento do risco da síndrome metabólica e diabetes do tipo II. O treinamento com RFS (RFS) tem sido proposto como uma forma efetiva para induzir hipertrofia utilizando-se de cargas baixas, com pouco ou nenhum dano muscular. O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos agudos e crônicos da eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com restrição parcial do fluxo sanguíneo (EEF+RFS) em músculos afetados pela lesão medular. Os efeitos agudos de uma sessão de EEF com (grupo EEF+RFS) e sem RFS (grupo EEF) nos níveis de lactato sanguíneo, na espessura muscular (EM) e na formação de edema foram comparados. Os efeitos crônicos na EM e na formação de edema após oito semanas de EEF com e sem RFS, realizados duas vezes por semana, foram também comparados. O grupo EEF+RFS mostrou aumentos agudos maiores nos níveis de lactato, na EM e edema, comparado ao grupo EEF ($p < 0,05$). O grupo EEF+RFS mostrou um aumento crônico na EM após 4 semanas de treinamento ($p < 0,05$), sem aumentos adicionais da 4^a para a 8^a semana ($p > 0,05$). Após 3 semanas de destreinamento, a EM diminuiu aos valores basais. Não houve mudanças na EM crônica no grupo EEF ao longo das 8 semanas de treinamento ($p > 0,05$). O presente estudo mostrou que 8 semanas de eletro-estimulação funcional combinada com RFS induz a aumentos na EM dos músculos afetados pela lesão medular. Os efeitos agudos indicam que a eletro-estimulação induz a um maior acúmulo de metabólitos e edema, quando combinada com RFS. Os efeitos crônicos sugerem que os aumentos iniciais na EM podem ser atribuídos a edema, ao passo que depois da 4^a semana os aumentos podem ser interpretados predominantemente como hipertrofia muscular.

Palavras-chave: lesão medular, RFS, eletro-estimulação funcional, hipertrofia muscular, edema.

ABSTRACT

Muscle atrophy is one of the most evident consequences of SCI, as a result of chronic immobility. The detrimental effects of SCI on large skeletal muscle groups may lead to secondary effects such as glucose intolerance, increased risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. Blood flow restriction (BFR) training has been proposed as an effective method to induce hypertrophy using low training loads, with little or no muscle damage. This study aimed to investigate the acute and chronic effects of low-intensity functional electrical stimulation (FES) combined with blood flow restriction (BFR) on muscles affected by spinal cord injury. The acute effects of one bout of FES with (FES+BFR group) and without BFR (FES group) on blood lactate, muscle thickness (MT) and edema formation were compared. The chronic effects on MT and edema following 8-weeks of twice weekly training with and without BFR were also compared. The FES+BFR group showed greater acute blood lactate, MT and edema increases compared to the FES only group ($p < 0.05$). The FES+BFR group showed a chronic MT increase after 4 week of training ($p < 0.05$), with no further MT increases from the 4th to the 8th week ($p > 0.05$). Following 3 week of detraining, MT decreased to baseline values. No MT changes were observed in the FES group throughout the 8 weeks ($p > 0.05$). This current study showed that 8 weeks of low-intensity FES training combined with BFR induces MT increases on the paralyzed skeletal muscles of spinal cord-injured men. The acute effects suggest that functional electrical stimulation induces a greater metabolites accumulation and edema, when combined with BFR. The chronic effects suggest that early increases in MT can be attributed to edema, whereas after the 4th week the increased MT can be interpreted predominantly as muscle hypertrophy.

Keywords: spinal cord injury, blood flow restriction, functional electrical stimulation, muscle hypertrophy, edema.

1 INTRODUÇÃO

A lesão medular é uma grave condição que leva a importantes mudanças nos músculos esqueléticos, especialmente abaixo do nível da lesão (GORDON *et al.*, 1994). Uma das consequências mais evidentes após lesão medular é a expressiva diminuição da massa muscular que ocorre devido à interrupção das vias motoras descendentes. O estudo de CASTRO *et al.* (1999) mostrou que a área de secção transversa (AST) do quadríceps diminuiu cerca de 16% após seis meses de lesão medular, chegando a apresentar 50% da AST de observada em sujeitos hígidos. Esta atrofia é acompanhada por alterações na composição do músculo esquelético, tais como o aumento da gordura intramuscular (ELDER *et al.*, 2004a) e a transformação de fibras oxidativas do tipo I em fibras glicolíticas do tipo II (NEUMAYER *et al.*, 1997). Coletivamente, estes efeitos deletérios da lesão medular em grandes grupos musculares podem levar a efeitos secundários, tais como a intolerância a glicose, aumento do risco de síndrome metabólica em diabetes do tipo 2 (GORGEY *et al.*, 2014). Portanto, a manutenção da massa muscular em portadores de lesão medular pode prover benefícios importantes sobre a saúde, independente da perspectiva de restabelecer a funcionalidade muscular.

A eletro-estimulação funcional (EEF) é eficaz para induzir hipertrofia em músculos paralisados, o que pode constituir uma alternativa para aumentar o consumo energético em repouso (CARRARO, 2002; KERN *et al.*, 2002; GORGEY *et al.*, 2010). Consequentemente, aumentos de massa muscular podem ajudar a reduzir a quantidade de massa adiposa e a incidência de comorbidades relacionadas à obesidade nesta população. Portanto, estímulos apropriados podem promover respostas hipertróficas relevantes sobre músculos paralisados. A maior parte dos protocolos de EEF consistem em contrações tetânicas evocadas por estímulos de alta intensidade, a fim de se produzir movimentos contra resistências externas progressivas, de acordo com o princípio da sobrecarga (MEDICINE, 2009). Entretanto, os músculos paralisados demandam correntes de amplitudes muito altas para se evocar contrações de alta tensão, devido à impedância causada pela proliferação de tecido conjuntivo (ex.: perímísio) e de gordura intramuscular (GERRITS *et al.*, 1999). Além disso, os limites dos equipamentos de eletro-estimulação comercialmente disponíveis não são capazes de fornecer amplitudes de

corrente suficientemente altas para se produzir a tensão necessária para induzir hipertrofia por meio de estímulos mecânicos.

Contrações eletricamente evocadas por altas amplitudes de corrente produzem altas tensões nas fibras musculares, o que causa danos à ultraestrutura dos sarcômeros (TIDBALL, 2011), e pode aumentar a suscetibilidade à lesões (IVERSEN *et al.*, 2000). Além disso, pessoas com lesão medular apresentam um detrimento das funções imunológicas, as quais parecem estar envolvidas com o processo de hipertrofia muscular (PATTERSON *et al.*, 2013). Portanto, o processo inflamatório resultante das microlesões causadas pela EEF de alta intensidade pode retardar o reparo muscular e diminuir o efeito hipertrófico nesta população. Outra possível desvantagem da EEF de alta intensidade é o aumento do risco de complicações ortopédicas. De fato, a ausência de sustentação de peso sobre os membros inferiores paralisados leva à uma expressiva perda de densidade mineral óssea, o que torna os ossos mais suscetíveis à fraturas por estresse (BICKEL *et al.*, 2004b). Assim, métodos alternativos de EEF de baixa intensidade que produzam pouco ou nenhum dano muscular podem ser mais seguros e efetivos para promover hipertrofia em músculos paralisados após a lesão medular.

O treinamento com RFS tem sido proposto como um método efetivo para induzir hipertrofia em hígidos, com cargas de treinamento relativamente baixas – entre 10-20% da capacidade contrátil máxima do músculo (LOENNEKE *et al.*, 2012h). Dentre os vários mecanismos propostos para explicar o efeito hipertrófico do treinamento com oclusão vascular, acredita-se que o acúmulo de metabólitos (ex.: lactato) tenha um importante papel na mediação de processos anabólicos, tais como o aumento da liberação de hormônio do crescimento (TAKARADA *et al.*, 2000b), a diminuição da expressão da miostatina (LAURENTINO *et al.*, 2012) e o aumento do recrutamento das fibras do tipo II (LOENNEKE *et al.*, 2011a). Além disso, recentes evidências apontam que o inchaço celular agudo causado pelo exercício com RFS é também um estímulo para a hipertrofia (LOENNEKE *et al.*, 2012e). Independente dos mecanismos envolvidos, os marcadores fisiológicos de dano muscular permanecem relativamente inalterados após o treinamento com RFS, o que indica pouca ou nenhuma microlesão tecidual (ABE *et al.*, 2006; OZAKI *et al.*, 2010; LOENNEKE *et al.*, 2012h; THIEBAUD *et al.*, 2014; FARUP *et al.*, 2015). Tais

achados sugerem que o treinamento de baixa intensidade com oclusão vascular pode ser uma alternativa para se produzir hipertrofia em músculos paralisados de pessoas com lesão medular, devido ao fato de serem impossibilitados de suportar alto estresse mecânico.

Os efeitos da eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com RFS foram investigados no estudo de NATSUME *et al.* (2015), que demonstrou que após duas semanas de treinamento em hígdos, realizado em duas sessões diárias, houve um aumento de 3,9% na espessura muscular do quadríceps. Em outro estudo recente, GORGEY *et al.* (2016) mostraram que após seis semanas de treinamento, realizado duas vezes por semana, houve um aumento de 15% na AST dos músculos extensores do punho, em indivíduos com lesão medular. Entretanto, os músculos do antebraço são relativamente pequenos e, por isso, tem baixa influência no gasto energético em repouso (BOSY-WESTPHAL *et al.*, 2004). Portanto, a hipertrofia em músculos maiores (ex.: quadríceps) pode proporcionar um maior benefício para o metabolismo de pessoas com lesão medular.

Sabe-se que a eletro-estimulação funcional pode produzir dano muscular em pessoas saudáveis, sendo maior em pessoas não-treinadas (NOSAKA *et al.*, 2011). Portanto, as características dos músculos afetados pela lesão medular podem torná-los altamente suscetíveis a dano induzido pela eletro-estimulação, mesmo com baixa intensidade. Apesar dos aumentos na AST reportados no estudo de GORGEY *et al.* (2016) terem sido expressivos para o curto período de treinamento, não foi realizada nenhuma forma de medição de edema, induzido por dano muscular. De fato, em um estudo recente DAMAS *et al.* (2016a) mostraram que o inchaço muscular causado por edema, observado nas primeiras semanas de treinamento, pode ser equivocadamente interpretado como hipertrofia. Naquele estudo, os autores sugeriram que a medição das mudanças na AST deve ser acompanhada de alguma forma de medida de edema. Não são conhecidos estudos que tenham investigado os efeitos agudos e crônicos da eletro-estimulação funcional combinada com RFS no quadríceps de pessoas com lesão medular.

2 OBJETIVOS E HIPÓTESES

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do presente estudo foi investigar e comparar o efeito do treinamento de eletro-estimulação funcional combinada com RFS nos músculos afetados pela lesão medular.

2.2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do presente foram verificar e comparar os efeitos do treinamento de eletro-estimulação funcional combinado com RFS sobre:

- os níveis agudos de lactato sanguíneo;
- a espessura muscular aguda do compartimento anterior da coxa;
- a formação de edema agudo induzido pelo exercício;
- a espessura muscular crônica do compartimento anterior da coxa;
- a formação de edema crônico induzido pelo exercício

Foram também investigados os efeitos do destreinamento na espessura muscular e no edema, após 3 semanas de interrupção do treinamento.

2.2 HIPÓTESES

De acordo com os objetivos específicos propostos, as hipóteses da tese foram:

H₁. A eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com RFS produz um maior aumento agudo nos níveis de lactato, em comparação ao exercício sem RFS;

H₂. A eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com RFS produz um maior aumento agudo na EM, em comparação ao exercício sem RFS;

H₃. A eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com RFS causa edema imediatamente após o término da sessão;

H₄. A eletro-estimulação funcional de baixa intensidade promove aumentos crônicos na EM, quando realizada em combinação com RFS;

H₅. A eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com RFS causa edema nas primeiras quatro semanas de treinamento.

H₆. Os aumentos crônicos na EM retornam aos níveis basais após um período de 3 semanas de destreinamento;

3 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo, serão abordados primeiramente as características da lesão medular e os seus efeitos deletérios na composição corporal. Em seguida, serão apresentados os estudos que investigaram métodos de eletro-estimulação para se promover hipertrofia em pessoas com lesão medular. Por fim, o treinamento com RFS será abordado, com uma revisão dos seus potenciais mecanismos, além dos efeitos agudos e crônicos reportados na literatura.

3.1 Lesão medular

A lesão medular é uma condição clínica grave que causa a interrupção total ou parcial da transmissão de sinais neurais no nível da lesão e abaixo dela. Classifica-se como completa quando há ausência total de funções motoras ou sensoriais distais ao nível da lesão (SEZER *et al.*, 2015). A tetraplegia é caracterizada quando a lesão é ao nível cervical e resulta na perda completa ou parcial da função dos membros superiores e inferiores, assim como dos órgãos torácicos, abdominais e pélvicos. A paraplegia é caracterizada quando a lesão ocorre nos segmentos torácico, lombar ou sacral da coluna. Na paraplegia a função dos membros superiores é preservada, mas dependendo do nível da lesão, o tronco, as pernas e os órgãos pélvicos podem também ser comprometidos. O termo é também referente à lesões na cauda equina e no cone medular, mas não a lesões no plexo lombossacral ou a nervos periféricos (WATERS *et al.*, 1991; MAYNARD *et al.*, 1997).

Além do comprometimento da função motora, a lesão medular acarreta em várias complicações secundárias a longo prazo, tais como disfunções respiratórias (REINES *et al.*, 1987), complicações cardiovasculares (HAGEN *et al.*, 2012), disfunções urinárias e intestinais (BENEVENTO *et al.*, 2002), intestino neurogênico (WYNDAELE, 2010), síndromes dolorosas (REKAND *et al.*, 2012b), úlceras de pressão (REGAN *et al.*, 2009), osteoporose, fraturas (JIANG *et al.*, 2006) e espasticidade (REKAND *et al.*, 2012a).

3.2 Alterações na composição corporal após a lesão medular

Uma das consequências clínicas mais importantes em pessoas com lesão medular é a expressiva diminuição dos níveis de atividade física, o que resulta em importantes alterações na composição corporal e no perfil metabólico (SPUNGEN *et al.*, 2003; GATER, 2007; GORGEY *et al.*, 2014). Este capítulo pretende revisar os estudos que investigaram os efeitos da lesão medular em diferentes tecidos.

3.2.1 Atrofia muscular

A atrofia muscular é uma das consequências primárias observadas em pessoas com lesão medular. Em apenas seis semanas após a lesão, CASTRO *et al.* (1999) mostraram expressivas alterações na AST da coxa. Naquele mesmo estudo, sujeitos com lesão medular completa ao nível de C6 - T10 apresentaram uma diminuição de 18 a 46% na AST seis semanas após a lesão, comparados a um grupo controle sem lesão medular. Após 24 semanas, a AST observada foi de 45 a 80% menor. Outro estudo verificou uma redução na AST de 103 para 49 cm², seis meses após a lesão (DUDLEY *et al.*, 1999). GORGEY *et al.* (2007) verificaram que a AST foi 30% menor quando comparada a um grupo de indivíduos sem lesão medular.

Os mecanismos da atrofia muscular após a lesão medular foram investigados por URSO *et al.* (2007). Naquele estudo, foram analisadas alterações na expressão gênica do músculo esquelético paralisado. Foi demonstrado que a atividade transcricional da via da ubiquitina protease aumentou, cinco dias após a lesão medular. Consequentemente, os níveis de proteína para a subunidade proteasoma também aumentaram. A regulação positiva da via ubiquitina-protease aumenta a proteólise e, consequentemente, a degradação das proteínas musculares. Além disso, foram observados aumentos concomitantes na expressão gênica das metalotioneínas e dos inibidores da protease. As metalotioneínas exercem função protetora no músculo esquelético e os inibidores da protease inibem a sua proteólise (DUPONT-VERSTEEGDEN *et al.*, 1998). Portanto, estes achados indicam que as primeiras cadeias de sinalização ativadas poucos dias após a lesão

medular são aquelas envolvidas com a degradação de proteínas e as que protegem os músculos contra uma rápida atrofia.

Um estudo comparou o efeito da lesão medular na massa magra total de gêmeos monozigóticos (SPUNGEN *et al.*, 2000), determinada por meio de DEXA (*dual energy x-ray absorptiometry*). Foi observado um declínio acentuado da massa magra nos indivíduos com lesão medular, em uma taxa de aproximadamente 4 Kg a cada cinco anos. Naquele mesmo estudo, foi encontrada uma correlação negativa entre o nível da lesão e a porcentagem de massa magra. Além disso, os sujeitos com lesão medular completa, e em níveis mais altos, apresentaram menos massa magra do que os sujeitos com lesão medular incompleta. Quando os sujeitos com lesão medular foram comparados com seus irmãos sem lesão medular, a quantidade de massa magra da coxa foi 42% menor.

3.2.2 Aumento da quantidade de gordura intramuscular

O aumento da gordura intramuscular é também um fator frequentemente observado com a lesão medular (ELDER *et al.*, 2004a). Por exemplo, no estudo de SPUNGEN *et al.* (2000) a quantidade de gordura intramuscular foi três vezes maior do que a encontrada no grupo sem lesão medular. Os autores reportaram ainda que gordura intramuscular continuou a aumentar por 4,5 meses após a lesão, comparados aos valores da primeira medição. Outros estudos mostraram uma correlação negativa entre a gordura intramuscular e a sensibilidade à insulina, ao passo que as gorduras subcutânea e subfascial apresentaram baixa correlação (PERSEGHIN *et al.*, 1999; GOODPASTER *et al.*, 2004; SNIJDER *et al.*, 2005). Tais achados indicam que a etiologia da hiperinsulinemia encontrada após a lesão medular é atribuída pelas expressivas alterações na composição corporal.

A influência da gordura no metabolismo da glicose é uma possível causa da prevalência de casos de diabetes do tipo II após a lesão medular. Por exemplo, DUCKWORTH *et al.* (1980) verificaram que dos 45 voluntários com lesão medular, 27 apresentavam diabetes do tipo II. Testes de tolerância à glicose foram feitos por BAUMAN *et al.* (1994) para se identificar anormalidades no metabolismo de carboidratos após a lesão medular. Os autores reportaram que os níveis plasmáticos

de glicose e insulina foram mais elevados em pessoas com lesão medular em comparação a indivíduos hígidos, 120 minutos após a ingestão de 75 gramas de glicose. ELDER *et al.* (2004b) encontraram uma correlação entre a gordura ao redor dos músculos da coxa e os resultados dos testes de tolerância à glicose. Naquele estudo, a quantidade de gordura intramuscular explicou 70% da variação na glicose plasmática.

Os mecanismos pelos quais a gordura afeta o metabolismo do músculo esquelético ainda não estão esclarecidos. Acredita-se que o palmitoil CoA produzido pelo metabolismo dos lipídios pode inibir a ação da enzima fosfofrutoquinase (PFK), responsável pela regulação da glicólise, e assim causar uma perturbação aos gradientes para a entrada de açúcar no músculo esquelético (ELDER *et al.*, 2004b).

3.2.3 Diminuição da densidade mineral óssea

Os músculos são os principais responsáveis pela imposição de forças sobre o sistema esquelético (LU *et al.*, 1997). Como a lesão medular leva à inatividade dos músculos de membros inferiores, os ossos dos membros paralisados perdem um importante estímulo para a manutenção da DMO (GIANGREGORIO *et al.*, 2006). Além disso, a ausência de posturas de sustentação do peso corporal diminui o estímulo mecânico sobre os ossos, o que afeta o equilíbrio da atividade dos osteoblastos e osteoclastos. Assim, isto resulta em uma taxa de reabsorção maior do que a de síntese óssea, levando à uma osteoporose neurogênica (MAZESS *et al.*, 1983; GARLAND *et al.*, 1992; JIANG *et al.*, 2006). Após a lesão medular, estima-se que a DMO sofre um declínio de 2 a 4% por mês, especialmente nos locais onde há maior concentração de osso trabecular (FREY-RINDOVA *et al.*, 2000). Este declínio pode continuar por 2 a 8 anos, alcançando platôs em valores que correspondem de 50 a 60% abaixo dos níveis de DMO encontrados em hígidos.

Os mecanismos da desmineralização óssea após a lesão medular devem ser compreendidos sob a perspectiva da Lei de Wolff. Esta lei afirma que toda alteração na forma ou função dos ossos é acompanhada por alterações nas suas estruturas internas e externas, que concordam com leis matemáticas (WOLFF, 2012). Dessa forma, alterações nos ossos ocorrem em função da imposição de

estímulos mecânicos sobre eles. De fato, DAUTY *et al.* (2000) demonstraram que a desmineralização óssea não depende do nível neurológico da lesão medular, mas sim das forças impostas em diferentes regiões dos ossos. Os autores verificaram que após um ano da lesão medular a perda de massa óssea foi maior na região distal do fêmur (52%) e proximal da tíbia (70%), ao passo que na coluna lombar a perda foi de 11%. Tais achados corroboram com outros estudos que mostraram que as epífises do fêmur e da tíbia são os principais locais afetados pela desmineralização após a lesão medular, tornando-as mais propensas a fraturas (BIERING - SØRENSEN *et al.*, 1990; FROTZLER *et al.*, 2008; MCHENRY *et al.*, 2012).

O efeito da EEF na DMO de pessoas com lesão medular é controverso na literatura. SHIELDS *et al.* (2007) treinaram os músculos flexores plantares com EEF, durante 3 anos. Naquele estudo, a porcentagem da perda da DMO da perna treinada foi menor (10%) do que a encontrada na perna contralateral (25%) não-treinada (controle). Efeitos positivos foram também encontrados no estudo de GROAH *et al.* (2010), que reportaram aumentos da DMO no fêmur distal e na tíbia proximal com EEF do quadríceps, ao passo que não houve mudanças na região lombar e no quadril. ARIJA-BLAZQUEZ *et al.* (2014) verificaram que não houve aumento na DMO após 14 semanas de EEF. Uma possível explicação para a discrepância dos achados é que as adaptações ocorrem somente nas áreas do osso que sofreram estresse mecânico (BÉLANGER *et al.*, 2000).

3.3 Efeito da eletro-estimulação funcional (EEF) nos músculos paralisados

Vários estudos investigaram o efeito da EEF na massa muscular após a lesão medular (BALDI *et al.*, 1998; DUDLEY *et al.*, 1999; CRAMERI *et al.*, 2000; CRAMERI *et al.*, 2002; MAHONEY *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2007; ARIJA-BLAZQUEZ *et al.*, 2014). As modalidades de EEF encontradas mais frequentemente na literatura consistem de ações dinâmicas em um ciclo-ergômetro adaptado, ou extensões unilaterais de joelho com uma carga externa adicionada à perna.

Entretanto, a segurança da aplicação da eletro-estimulação funcional com cargas externas para se produzir hipertrofia em músculos afetados pela lesão

medular é controversa. De fato, vários estudos sugerem que contrações que produzem altas tensões em grandes grupos musculares são potencialmente lesivos para pessoas com lesão medular porque produzem um alto estresse mecânico nos tendões e ossos das articulações imobilizadas (GRUNER, 1983; FAGHRI *et al.*, 1989; RODGERS *et al.*, 1991; KEATING *et al.*, 1992; HARTKOPP *et al.*, 1998).

BALDI *et al.* (1998) verificaram o efeito de dois protocolos de EEF na massa magra de tetraplégicos e pessoas com lesão medular, medida por DEXA. Ao final de 6 meses de treinamento, o grupo submetido à EEF com isometria perdeu menos massa magra na região glútea, comparado ao grupo controle. O grupo submetido à EEF no ciclo-ergômetro obteve aumento na massa magra da região glútea e dos membros inferiores.

MAHONEY *et al.* (2005) aplicaram EEF na coxa 2 vezes por semana, durante 12 semanas. Uma carga externa foi adicionada à perna para se oferecer resistência à extensão do joelho. Foi observado um aumento médio de 35 e 39% nos quadríceps direito e esquerdo, respectivamente, além de uma tendência para a redução dos níveis da glicose plasmática. Segundo os autores, os expressivos ganhos encontrados foram explicados pela pequena AST observada antes da intervenção.

Em um estudo-piloto, DUDLEY *et al.* (1999) submeteram três sujeitos com lesão medular a EEF nos músculos da coxa, duas vezes por semana, durante 8 semanas. O treinamento consistiu de 10 séries de ações dinâmicas ou isométricas. Os autores observaram um aumento de 20% na AST do quadríceps e reportaram que este efeito reverteu 48 semanas de atrofia. Um ano após a lesão medular, a AST do quadríceps apresentou valores similares aos medidos em 6 semanas após a lesão.

O estudo de SCREMIN *et al.* (1999) aplicou a EEF em três fases: (1) fortalecimento do quadríceps, (2) estimulação sequencial para induzir movimentos rítmicos no ciclo-ergômetro e (3) sessões de 30 minutos de EEF no ciclo-ergômetro. Os voluntários progrediram de uma fase para outra à medida em que eram atingidos os desempenhos estabelecidos para cada fase. O tempo médio de duração do

protocolo completo, com as três fases, foi de 52,8 semanas. As avaliações por tomografia computadorizada revelaram aumentos da AST do reto femoral (31%), sartório (22%), adutor magno e isquiotibiais (26%), vasto lateral (39%) e vastos medial e intermédio (31%).

Em um estudo-piloto, CRAMERI *et al.* (2000) submeteu indivíduos a sessões de 60 minutos de EEF nos extensores do joelho cinco meses após a lesão medular, durante 16 semanas, cinco dias por semana. Um grupo controle de pessoas com lesão medular foi usado para comparação. As amostras de biópsias revelaram uma menor alteração na proporção de fibras do tipo I (de 49% para 40%) e também na diminuição da AST das fibras do tipo I, IIA e IIX. Os autores sugeriram que a EEF é capaz de prevenir os efeitos da lesão medular sobre os músculos paralisados, caso a intervenção tenha início o mais próximo possível do período após a lesão medular. O mesmo grupo de pesquisadores conduziu outro estudo similar de EEF, porém com sessões menos frequentes (3x/semana) de 30 minutos, durante 10 semanas (CRAMERI *et al.*, 2002). As análises histoquímicas mostraram que a EEF pode produzir melhorias na capacidade funcional e no metabolismo oxidativo dos músculos paralisados após a lesão medular.

LIU *et al.* (2007) avaliaram alterações na circunferência dos membros inferiores e na composição corporal após 8 semanas de EEF em pessoas com lesão medular incompleta, três vezes por semana. Os achados daquele estudo mostraram aumentos na circunferência da coxa e da massa magra. Como os músculos flexores plantares não foram diretamente estimulados, não foram observados aumentos na circunferência da perna.

ARIJA-BLAZQUEZ *et al.* (2014) verificaram o efeito de 14 semanas de EEF, cinco dias por semana, na AST do quadríceps após 8 semanas da ocorrência da lesão medular. Foi mostrado um aumento médio de 10,08% na AST do grupo treinado, ao passo que o grupo controle apresentou uma perda média de 14,76%. Entretanto, os autores afirmaram que a AST observada no grupo treinado (aproximadamente 51 cm²) foi muito menor do que a média da AST observada em indivíduos hígidos não-treinados (aproximadamente 80 cm²), medidos com a mesma técnica. Isto sugere que pessoas com lesão medular podem precisar de expressivas

magnitudes de hipertrofia para se atingir valores médios normais de volume muscular.

Não há um consenso na literatura a respeito dos parâmetros de duração de pulso, frequência, e amplitude da corrente da eletro-estimulação (GORGEY *et al.*, 2015). Por exemplo, a quantidade de gordura intramuscular, gordura subcutânea e o volume muscular podem diminuir a propagação da corrente da EEF (SCREMIN *et al.*, 1999; GORGEY *et al.*, 2013b). Além disso, estudos sugerem que os parâmetros da EEF podem depender da idade (DOLBOW *et al.*, 2013) e da fadiga muscular durante o treinamento (PELLETIER *et al.*, 2009; DELEY *et al.*, 2015).

A maior parte dos estudos utilizou estimulações de baixa frequência (20-30 Hz) para se atenuar o processo de fadiga muscular durante a aplicação dos protocolos (DELEY *et al.*, 2015). A duração dos pulsos também é discrepante na literatura. Normalmente, os pulsos são retangulares com durações que variaram entre 200 e 450 μ s. Os critérios de intensidade dos estímulos foi estabelecido conforme a ação desejada, como por exemplo, a corrente necessária para se obter uma extensão completa no joelho ou para se obter movimentos coordenados no cicloergômetro (HJELTNES *et al.*, 1997; BALDI *et al.*, 1998; CHILIBECK *et al.*, 1999; DUDLEY *et al.*, 1999; MOHR *et al.*, 2001; CRAMERI *et al.*, 2002; GORGEY *et al.*, 2006; GRIFFIN *et al.*, 2009; GROAH *et al.*, 2010). Quanto à frequência das sessões, estudos tem mostrado que os músculos afetados pela lesão medular que nunca foram submetidos à eletro-estimulação possam sofrer maior dano e, por essa razão, uma frequência de duas sessões por semana seja mais adequada (BICKEL *et al.*, 2004a; MAHONEY *et al.*, 2005).

3.4 Efeitos do treinamento com RFS na massa muscular

O treinamento com RFS consiste em um método de treinamento resistido de baixa intensidade (20-30% de 1RM) com restrição parcial do fluxo sanguíneo no músculo exercitado (PEARSON *et al.*, 2015). Geralmente, a RFS é realizado por meio de um esfigmomanômetro inflável a uma pressão suficiente para restringir o retorno venoso, ao passo que o fluxo arterial permanece livre. Este método, concebido originalmente com o nome de *Kaatsu* (SATO, 2005), tem sido extensivamente investigado na literatura com inúmeras variações de protocolo,

incluindo diferentes pressões e tamanhos do esfigmomanômetro, volumes de treinamento, cargas e tipos de exercícios (BURGOMASTER *et al.*, 2003; ISHII *et al.*, 2005; ABE *et al.*, 2006; KARABULUT *et al.*, 2007; KARABULUT *et al.*, 2010; LAURENTINO *et al.*, 2012; LOWERY *et al.*, 2014).

Evidências tem mostrado que o treinamento com RFS tem produzido ganhos expressivos de hipertrofia muscular com intensidades de 20-30% de 1RM (LOENNEKE *et al.*, 2012h). Tais achados em sido surpreendentes, considerando-se que a recomendação das diretrizes do Colégio Americano de Medicina Esportiva para a intensidade no treinamento de hipertrofia é de cargas correspondentes a 70-85% da força dinâmica máxima (ACSM, 2009). Além disso, alguns estudos mostraram efeitos positivos na massa muscular sem a adição de nenhum tipo de resistência mecânica externa. Por exemplo, TAKARADA *et al.* (2000c) aplicaram duas sessões diárias de RFS em pacientes em pós-operatório de ligamento cruzado anterior. A pressão de 238 mmHg foi aplicada com um esfigmomanômetro em séries de 5 minutos, com 3 minutos de intervalo. Naquele estudo, não houve nenhum outro tipo de estímulo. Os resultados mostraram que a RFS diminuiu a atrofia por desuso dos músculos extensores do joelho, em comparação à atrofia observada no grupo controle. Os autores sugeriram que a hipóxia local causada pela oclusão do fluxo sanguíneo foi capaz de estimular a síntese de proteína, proporcionando assim um ambiente menos catabólico ao músculo imobilizado. Apesar da RFS ter sido o único estímulo aplicado no estudo de TAKARADA *et al.* (2000c), a maior parte dos estudos encontrados na literatura combinou a RFS com exercícios resistidos ou com o peso corporal.

Nesse sentido, ABE *et al.* (2005c) treinaram indivíduos jovens saudáveis divididos em dois grupos: (1) treinamento resistido com RFS e (2) treinamento resistido sem RFS. Os participantes treinaram o exercício agachamento e mesa flexora duas vezes por dia durante 12 dias consecutivos, a uma intensidade de 20% de 1RM com 3 séries de 15 repetições. Foram aplicadas pressões de 160 a 240 mmHg. A AST foi medida diariamente por meio de ressonância magnética. Houve maiores aumentos na AST e na concentração de IGF-1 no grupo treinado com RFS.

Em outro estudo, ABE *et al.* (2006) treinaram indivíduos jovens saudáveis com duas sessões diárias de caminhadas com RFS em uma esteira ergométrica, cinco dias por semana, durante três semanas. Em um grupo, as caminhadas foram realizadas com RFS em velocidades intervaladas, ao passo que um grupo controle realizou o exercício sem RFS. Foi observado um aumento de 4-7% na AST da coxa no grupo com RFS, ao passo que o grupo controle não apresentou hipertrofia. Os autores sugeriram que é possível se estimular ganhos na massa muscular com intensidades mínimas de treinamento, e que populações frágeis ou idosos podem também se beneficiar deste método.

TAKARADA *et al.* (2004) treinaram atletas jovens, divididos em três grupos: (1) baixa intensidade com RFS, (2) baixa intensidade sem RFS e (3) RFS sem exercício. Os grupos treinados com exercício realizaram cinco séries de extensões bilaterais de joelho até a falha concêntrica, a 20% de 1RM, duas vezes por semana, por 8 semanas. A pressão média aplicada nos grupos com RFS foi de 218 mmHg. Foi verificado que somente o grupo que treinou com baixa intensidade com RFS apresentou aumentos na AST dos músculos extensores do joelho. Além disso, este grupo apresentou concentrações plasmáticas pós-exercício de hormônio do crescimento mais elevadas em comparação aos grupos treinados somente com exercício ou somente com RFS.

FUJITA *et al.* (2008) treinaram indivíduos jovens saudáveis, divididos em dois grupos: (1) baixa intensidade com RFS e (2) baixa intensidade sem RFS. Foram realizadas duas sessões diárias separadas por mínimo 4 horas, por seis dias consecutivos. O exercício consistiu de uma série de 30 repetições, seguida por 3 séries de 15 repetições na cadeira extensora, a 20% de 1RM. No grupo com RFS, foram aplicadas pressões progressivas, de 160 a 220 mmHg. Os resultados mostraram que houve um aumento na AST do quadríceps somente no grupo treinado com RFS.

LAURENTINO *et al.* (2008) treinaram indivíduos jovens saudáveis, em dois grupos divididos de acordo com a força dos extensores do joelho nos testes pré-treinamento. Um grupo treinou com intensidade alta (80% de 1RM), ao passo que o outro grupo treinou com intensidade moderada (60% de 1RM). O exercício consistiu

de extensões de joelho unilaterais, de forma que uma das coxas era treinada com RFS e a outra sem RFS, como controle. O treinamento foi realizado duas vezes por semana, durante 8 semanas. Um *Doppler* vascular foi utilizado para se determinar a pressão individual para cada sujeito, por meio da auscultação da artéria tibial. Os resultados indicaram que ambos os grupos aumentaram similarmente a AST do quadríceps, independente da intensidade (alta ou moderada) e da condição experimental (com ou sem RFS).

TAKADA *et al.* (2012) treinaram indivíduos jovens saudáveis em um protocolo que consistiu de duas séries de flexão plantar por 30 repetições a 20% de 1RM. As sessões de treinamento foram realizadas duas vezes por dia, 3 vezes por semana, durante 4 semanas. A pressão de RFS foi equivalente a 130% da pressão sistólica em repouso. Foram medidas a AST do gastrocnêmio e o acúmulo de metabólitos intramusculares com espectroscopia, ambos com ressonância magnética. Os resultados mostraram que a AST aumentou significativamente a partir da segunda semana e que as concentrações de metabólitos (Pi, pH, H_2PO_4^- e ADP) apresentaram uma correlação positiva com os aumentos na AST e no teste de 1RM.

YASUDA *et al.* (2014) treinaram indivíduos idosos (61-78 anos), divididos em um grupo exercitado com RFS e um outro grupo controle, que não foi exercitado. O grupo exercitado treinou na cadeira extensora duas vezes por semana, durante 12 semanas, com intensidade de 20% de 1RM. A RFS foi aplicada com pressão de 270 mmHg. Após 12 semanas, os participantes foram submetidos a um período de 24 semanas de destreinamento. A AST foi estimada por meio de medidas de ultrassom. Os resultados mostraram que houve aumento na AST do quadríceps, mas que retornou aos valores basais ao final do destreinamento. Além disso, foi observada uma elevada relação entre a AST do quadríceps e a força máxima obtida nos testes de 1RM na cadeira extensora e no leg-press.

VECHIN *et al.* (2015) treinaram indivíduos com idade entre 59 e 71 anos, que foram divididos em três grupos: um grupo de alta intensidade (70-80% de 1RM) com RFS, outro grupo de baixa intensidade (20-30% de 1RM) com RFS e um terceiro grupo sem exercício, como controle. O grupo que treinou sem RFS realizou 4 séries de 10 RM, ao passo que o grupo que treinou com RFS realizou uma série

de 30 repetições, seguida de três séries de 15 repetições, duas vezes por semana. A pressão média aplicada na RFS foi de 71 mmHg. Os resultados mostraram que a AST aumentou similarmente, em ambos os grupos, com aumentos significativos na força observados somente no grupo que treinou com alta intensidade, sem RFS.

SAKAMAKI *et al.* (2011) treinaram indivíduos jovens saudáveis divididos em um grupo com RFS e outro sem RFS. O exercício consistiu de 3 semanas de caminhadas na esteira ergométrica à velocidade de 50 m/min por 5 séries de 2 minutos, com 1 minuto de intervalo. O grupo que treinou com RFS caminhou com um torniquete pneumático na parte proximal da coxa, inflado à pressão de 160-230 mmHg. Os resultados mostraram que o volume dos músculos da coxa e da perna aumentaram somente no grupo que treinou com RFS.

Apesar dos efeitos do treinamento com RFS na massa muscular terem sido extensivamente investigados na literatura, não há um consenso a respeito dos melhores parâmetros de intensidade, tempo sob tensão e pressão que promovam as maiores respostas hipertróficas. Quando a capacidade de força máxima foi usada como parâmetro, a intensidade aplicada nos estudos variou de 20% a 50% de 1RM. Quanto à magnitude da pressão, os estudos divergem entre 50 e 260 mm/Hg (YASUDA *et al.*, 2005; MADARAME *et al.*, 2008; YASUDA *et al.*, 2013). Além disso, a largura do esfigmomanômetro e a circunferência do segmento corporal também podem influenciar na pressão necessária para se produzir o estímulo (LOENNEKE *et al.*, 2012f). Por exemplo, uma pressão menor é necessária para se ocluir o fluxo arterial com um torniquete de 13,5 cm de largura, em comparação a outro de 5 cm de largura (CRENSHAW *et al.*, 1988; LOENNEKE *et al.*, 2013b).

3.4.1 Potenciais mecanismos das respostas crônicas ao treinamento com restrição do fluxo sanguíneo (RFS)

Os mecanismos que levam à hipertrofia por meio da RFS ainda não são completamente esclarecidos. Vários mecanismos são sugeridos na literatura para se explicar este fenômeno, os quais serão descritos neste capítulo.

3.4.1.1 Aumento do recrutamento das fibras musculares

Acredita-se que o controle neuromuscular do movimento seja organizado de acordo com o princípio de Henneman, ou princípio do tamanho. Este princípio afirma que à medida que a intensidade do exercício aumenta, unidades motoras progressivamente maiores são recrutadas para se sustentar a tarefa (HENNEMAN *et al.*, 1965). Unidades motoras menores enervam fibras predominantemente lentas (tipo I), com baixa capacidade de produzir tensão. Isto sugere que o recrutamento de unidades motoras maiores, com fibras rápidas, só ocorreria com contrações de alta intensidade. Por outro lado, estudos demonstraram um aumento no recrutamento de fibras do tipo II durante o exercício com RFS (TAKARADA *et al.*, 2000b; TAKARADA *et al.*, 2000d). Como o acúmulo de metabólitos estimula as fibras aferentes do tipo III e IV, a consequente inibição do motoneurônio alfa resulta em um recrutamento compensatório de fibras do tipo II (YASUDA *et al.*, 2009). Estas, por sua vez, não dependem do oxigênio para a produção de força (MORITANI *et al.*, 1986). PEARSON *et al.* (2015) sugerem que esta mudança no padrão de recrutamento pode ser interpretado como uma inversão do princípio de Henneman. Dessa forma, no exercício em hipóxia as fibras do tipo II são prioritariamente recrutadas, mesmo com intensidades baixas.

3.4.1.2 Aumento da liberação aguda hormônio do crescimento (GH)

Aumentos nos níveis agudos de níveis de hormônios anabólicos tem sido demonstrados no treinamento com RFS (TAKANO *et al.*, 2005; PIERCE *et al.*, 2006; REEVES *et al.*, 2006; MADARAME *et al.*, 2010). A RFS durante as contrações leva ao acúmulo de metabólitos, tais como o lactato plasmático e celular, além do aumento da concentração de íons de H⁺, o que resulta no aumento da liberação do hormônio do crescimento (GH) (TAKARADA *et al.*, 2000a). Estudos tem mostrado que um ambiente intramuscular ácido estimula a atividade de nervos do sistema simpático por meio de um reflexo quimiorreceptivo mediado por metaboreceptores e fibras aferentes dos grupos III e IV (VICTOR *et al.*, 1989). Assim, é possível que esta via metabólica tenha um papel importante na regulação da secreção hipofisária de

GH. Por exemplo, TAKARADA *et al.* (2000b) encontraram elevações de até 290 vezes o nível basal sérico de GH após uma sessão de treinamento com RFS.

Acredita-se que o GH tenha um efeito na sinalização da síntese protéica muscular (KRAEMER *et al.*, 1993; MCCALL *et al.*, 1999; KRAEMER *et al.*, 2005; REEVES *et al.*, 2006). Entretanto, não há evidências que confirmem essa teoria. Vários estudos mostraram que o GH sinaliza a síntese de colágeno e tecido conjuntivo, mas não de proteínas contráteis, como a muscular (YARASHESKI *et al.*, 1992; FRISCH, 1998; WEST *et al.*, 2010a; WEST *et al.*, 2010b; SCHROEDER *et al.*, 2013). Portanto, é pouco provável que a hipótese da secreção de GH seja confirmada como um mecanismo para explicar a hipertrofia por meio do treinamento com RFS (LOENNEKE *et al.*, 2012c).

3.4.1.3 Inibição da miostatina

A miostatina é um gene (GDF-8) que faz parte da família "*transforming growth factor β* (TGF- β)", que regula negativamente o crescimento muscular (ARNOLD *et al.*, 2001; LIN *et al.*, 2002; LEE, 2004). A diminuição da sua expressão pode levar ao aumento da síntese de proteína muscular, como foi observado experimentalmente no fenótipo hipermuscular apresentado por bovinos e camundongos (LEE, 2004). Por exemplo, MCPHERRON *et al.* (1997) produziram camundongos geneticamente manipulados que apresentaram 2 a 3 vezes mais massa muscular do que o normal, sem apresentar aumentos na gordura corporal.

O efeito agudo do treinamento com RFS na expressão da miostatina foi investigado por DRUMMOND *et al.* (2008a). Naquele estudo, foi observada uma redução de aproximadamente 40% na expressão da miostatina após o exercício de cadeira extensora com RFS, a 20% de 1RM. Em um estudo longitudinal, ROTH *et al.* (2003) verificaram uma redução de 37% na expressão do gene após 9 semanas de treinamento resistido com intensidade de alta intensidade. LAURENTINO *et al.* (2012) demonstraram uma diminuição na expressão da miostatina após 8 semanas de treinamento resistido com RFS, a 20% e 80% de 1RM, sem diferença entre ambos.

3.4.1.4 Inchaço celular

O inchaço celular tem sido recentemente proposto como um dos mecanismos para explicar o papel do acúmulo de metabólitos nas adaptações hipertróficas ao treinamento com RFS (PEARSON *et al.*, 2015). Esse fenômeno é mediado por processos de auto-regulação da hidratação do meio intra-celular. Estudos mostraram que o inchaço celular pode induzir ao aumento na síntese de proteínas e à diminuição da proteólise em hepatócitos, osteócitos e fibras musculares (LANG, 2007). Um estudo de HAUSSINGER *et al.* (1993) observou que o efeito anabólico da insulina foi impedido devido à uma inibição do inchaço celular, causada por meio do bloqueio de transportadores de Na^+ , K e Cl. Apesar de não ser possível estabelecer um paralelo entre a função de células musculares e hepáticas, acredita-se que o inchaço celular seja um mecanismo que, associado aos citados anteriormente, possa alterar o balanço protéico em direção ao anabolismo, por meio da inibição do catabolismo (LOENNEKE *et al.*, 2012e).

Outro fator que pode aumentar o transporte de água para dentro da célula muscular é a reperfusão reativa (hiperemia) causada imediatamente após a liberação do fluxo sanguíneo. Estudos apontam que a magnitude da hiperemia é proporcional ao tempo sob o qual os vasos sanguíneos foram submetidos à compressão (JOHNSON *et al.*, 1976). Entretanto, há estudos que contestam a hipótese de que a hiperemia reativa seja o mecanismo responsável pela hipertrofia com RFS. Por exemplo, GUNDERMANN *et al.* (2012) investigaram o efeito da hiperemia na sinalização do eixo mTOR. Naquele estudo, a hiperemia foi simulada por meio da infusão de um vasodilatador farmacológico (nitroprussiato de sódio). Não foram encontrados aumentos na taxa da síntese de proteína, apesar do vasodilatador ter causado um aumento no fluxo de sangue similar ao observado na hiperemia reativa após a RFS. Por outro lado, os autores reportaram um aumento de 49% na taxa da síntese de proteína com a RFS.

Especula-se que o inchaço causado pela retenção de água no meio intra-celular pode causar um estiramento do sarcolema, causando assim uma ameaça à integridade da célula. Isto desencadeia uma resposta de sinalização que

cronicamente leva ao reforço da sua ultra-estrutura (LANG, 2007). LOW *et al.* (1997) sugerem que esta sinalização é conduzida por meio de osmosensores de volume associados a integrinas dentro da célula. Estes, por sua vez, ativam as vias de transdução proteína quinase anabólica, mediados pelo efeito autócrino de fatores de crescimento (PEARSON *et al.*, 2015).

As fibras rápidas (tipo II) são mais sensíveis a variações osmóticas, provavelmente devido à alta concentração de canais de transporte de água, denominados aquaporina-4 (AQP4). Estudos mostraram que a expressão da AQP4 é alta no sarcolema de fibras rápidas em mamíferos, o que facilita a entrada de fluídos dentro da célula (FRIGERI *et al.*, 1998). Considerando que fibras do tipo II são mais responsivas ao treinamento de hipertrofia (KOSEK *et al.*, 2006) e o seu recrutamento aumenta com a RFS (ver capítulo 2.2.6.1), é possível que a associação de ambos os mecanismos explique a hipertrofia observada com este método.

3.4.1.5 Espécies reativas de oxigênio

Espécies reativas de oxigênio, também conhecidas por radicais livres, são subprodutos do metabolismo celular produzidos primariamente na mitocôndria (THANNICKAL *et al.*, 2000; JACKSON, 2008) durante a contração muscular. A elevação crônica da liberação de espécies reativas de oxigênio parece estar associada a efeitos deletérios em vários tecidos, podendo inclusive levar à sarcopenia (FULLE *et al.*, 2004). Entretanto, como resposta aguda ao exercício, acredita-se que quando sua produção supera a capacidade anti-oxidante da célula, o estresse oxidativo agudo resultante ativa a sinalização da via MAPK (UCHIYAMA *et al.*, 2006). Além disso, evidências apontam que a magnitude das respostas agudas das espécies reativas de oxigênio dependem do tipo e da intensidade do exercício (ALESSIO *et al.*, 2000). Apesar do fato deste efeito regulador de transdução e sinalização celular ter sido mostrado nos músculos cardíaco e liso (SUZUKI *et al.*, 1999), é possível que o músculo esquelético também apresente respostas similares no que diz respeito à hipertrofia (TAKARADA *et al.*, 2000e).

Evidências apontam que a reperfusão sanguínea após a hipóxia causada pelo exercício com RFS aumenta expressivamente a produção de espécies reativas de oxigênio (CLANTON, 2007a). Dessa forma, a atividade contrátil da célula muscular em hipóxia causa um desequilíbrio na manutenção da homeostase, o que resulta em dano celular. Apesar de ser proposta como um dos potenciais mecanismos para hipertrofia no treinamento com RFS, destaca-se que a produção de espécies reativas de oxigênio é positivamente relacionada com a magnitude dos estímulos mecânicos (GOLDFARB *et al.*, 2008). Nesse sentido TAKARADA *et al.* (2000b), mostraram que não houve aumentos significativos na produção de espécies reativas de oxigênio após o exercício com RFS com intensidade de 20% de 1RM.

Os mecanismos pelos quais as espécies reativas de oxigênio atuam na hipertrofia ainda são especulativos. Uma das possibilidades é a sua influência na ação do IGF-1. Em um estudo *in vitro* HANDAYANINGSIH *et al.* (2011) mostraram que um tratamento com antioxidantes inibiu a hipertrofia de miócitos induzida pelo IGF-1, o que sugere que as espécies reativas de oxigênio desempenham um papel essencial na função do IGF-1 para a sinalização da hipertrofia. Outro importante fator é a propriedade das mitocôndrias das fibras do tipo II em se produzir maiores níveis de espécies reativas de oxigênio, em comparação às fibras do tipo I (CLANTON, 2007b). Considerando que o exercício de baixa intensidade com RFS normalmente tem um tempo sob tensão expressivamente maior que o exercício de alta intensidade, pode-se especular que sua característica metabólica produza mais espécies reativas de oxigênio.

3.5 Edema muscular induzido pelo exercício

Vários estudos reportaram hipertrofia muscular após as primeiras 3 a 4 semanas de treinamento resistido, com ou sem a aplicação de RFS em pessoas não-treinadas (ABE *et al.*, 2006; SEYNNES *et al.*, 2007; FUJITA *et al.*, 2008; KRENTZ *et al.*, 2010; DEFREITAS *et al.*, 2011). Entretanto, recentes evidências tem mostrado que os rápidos aumentos crônicos encontrados em períodos tão curtos de treinamento podem ser atribuídas predominantemente à formação de edema induzido pelo exercício, especialmente se for realizado com contrações excêntricas e em pessoas não-treinadas (DAMAS *et al.*, 2016a). Acredita-se que um dos

mecanismos primários para a formação do edema é o aumento da permeabilidade da parede das vênulas, que favorece a passagem de proteínas plasmáticas (MILLER *et al.*, 1986). Além disso, contrações musculares voluntárias ou eletricamente evocadas causam um aumento do fluxo arteriolar, devido ao aumento das demandas metabólicas (CURRIER *et al.*, 1986). Dessa forma, a combinação do aumento do fluxo arteriolar com o aumento da pressão venosa após o término do exercício resulta em uma maior saída de fluídos do leito de capilares e, ao mesmo tempo, uma menor reabsorção para dentro das vênulas (TAYLOR *et al.*, 1992). Portanto, este desequilíbrio resulta em um aumento de fluído no interstício, ou seja, edema (GUYTON *et al.*, 2011).

Estudos recentes tem proposto que os métodos de investigação de hipertrofia muscular induzida por exercício sejam compostos por alguma forma de medição de edema, concomitantemente com as medições de tamanho muscular (ex.: espessura muscular, área de secção transversa). Nesse sentido, DAMAS *et al.* (2016a) mostraram que a análise da intensidade do eco nas imagens de ultrassom são uma ferramenta válida para se identificar a proporção entre áreas mais claras, indicativas de edema, e áreas mais escuras, indicativas de tecido muscular normal. Naquele estudo, os autores observaram que quatro sessões de treinamento resistido realizado em duas semanas resultaram em aumento na AST. Entretanto, a análise da intensidade do eco indicou que a maior parte deste aumento foi atribuído ao inchaço relacionado ao edema, provavelmente induzido por dano muscular, ao invés de hipertrofia. Outros estudos também tem demonstrado a importância da análise de imagens para a identificação de edema (CHEN *et al.*, 2012; ROSENBERG *et al.*, 2014).

Destaca-se também o fato que variações agudas na intensidade do sinal em imagens de ultrassom e ressonância magnética também são podem ser indicativas de edema imediatamente após o exercício. De fato, o estudo de (FLECKENSTEIN *et al.*, 1988) mostrou que somente os músculos que foram ativados em um exercício de antebraço apresentaram alterações na intensidade do sinal, na ressonância magnética. Os autores sugeriram que tais variações agudas na intensidade do sinal são causadas por rápidas alterações no volume de água no interstício, o que corroborou com os achados de outros estudos prévios (SJOGAARD *et al.*, 1982).

Apesar de alguns autores sugerirem que as alterações na intensidade do sinal podem ser causadas pela reperfusão pós-exercício, os achados do estudo de (FLECKENSTEIN *et al.*, 1988) mostraram que a reperfusão não foi um fator determinante.

4 MÉTODOS

Este capítulo descreve as características da amostra, os procedimentos experimentais, as técnicas e os instrumentos de medição utilizados para investigar as hipóteses do presente estudo.

4.1 Amostra

Trinta e dois homens com lesão medular completa (ASIA A) foram avaliados para se verificar a elegibilidade para recrutamento. Os critérios de exclusão foram: lesão de cauda equina, choque medular, trombose venosa, disreflexia autonômica, complicações vasculares, úlceras de pressão, osteoporose, fratura recente, implantes e pinos metálicos no fêmur. A avaliação para elegibilidade foi realizada em uma única visita ao hospital de reabilitação Ana Carolina Moura Xavier. Para averiguar a responsividade do quadríceps, pulsos retangulares de 150 μ s com amplitude de corrente de 10 mA e frequência de 5 Hz foram aplicados para estimular o nervo femoral. Foi confirmada a elegibilidade de 21 sujeitos (figura 1), que consentiram em participar do estudo. Os participantes foram informados a respeito dos procedimentos e riscos e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Trabalhador (Curitiba-PR) sob o número CAAE: 48571315.4.0000.5225. As características dos participantes são apresentadas na tabela 1.

Os voluntários foram aleatoriamente alocados em dois grupos, balanceados pela medida da espessura muscular pré-treinamento. Os grupos foram definidos como: eletro-estimulação funcional com RFS (EEF+RFS) e eletro-estimulação sem RFS (EEF). Duas ausências consecutivas às sessões de treinamento foram consideradas para critério de exclusão do estudo. Devido ao pequeno tamanho amostral decorrente dos rígidos critérios de inclusão, não foi incluído um grupo controle (somente RFS). Nenhum dos participantes fez parte de outro experimento ou programa de treinamento e/ou reabilitação no decorrer do estudo. Dos 21 participantes, 3 desistiram do estudo por razões pessoais e 2 foram excluídos por ausência em duas sessões consecutivas. Portanto, foram analisados os dados de 9

participantes do grupo EEF+RFS (coxa direita + coxa esquerda, N = 18) e 7 participantes do grupo EEF (coxa direita + coxa esquerda, N = 14).

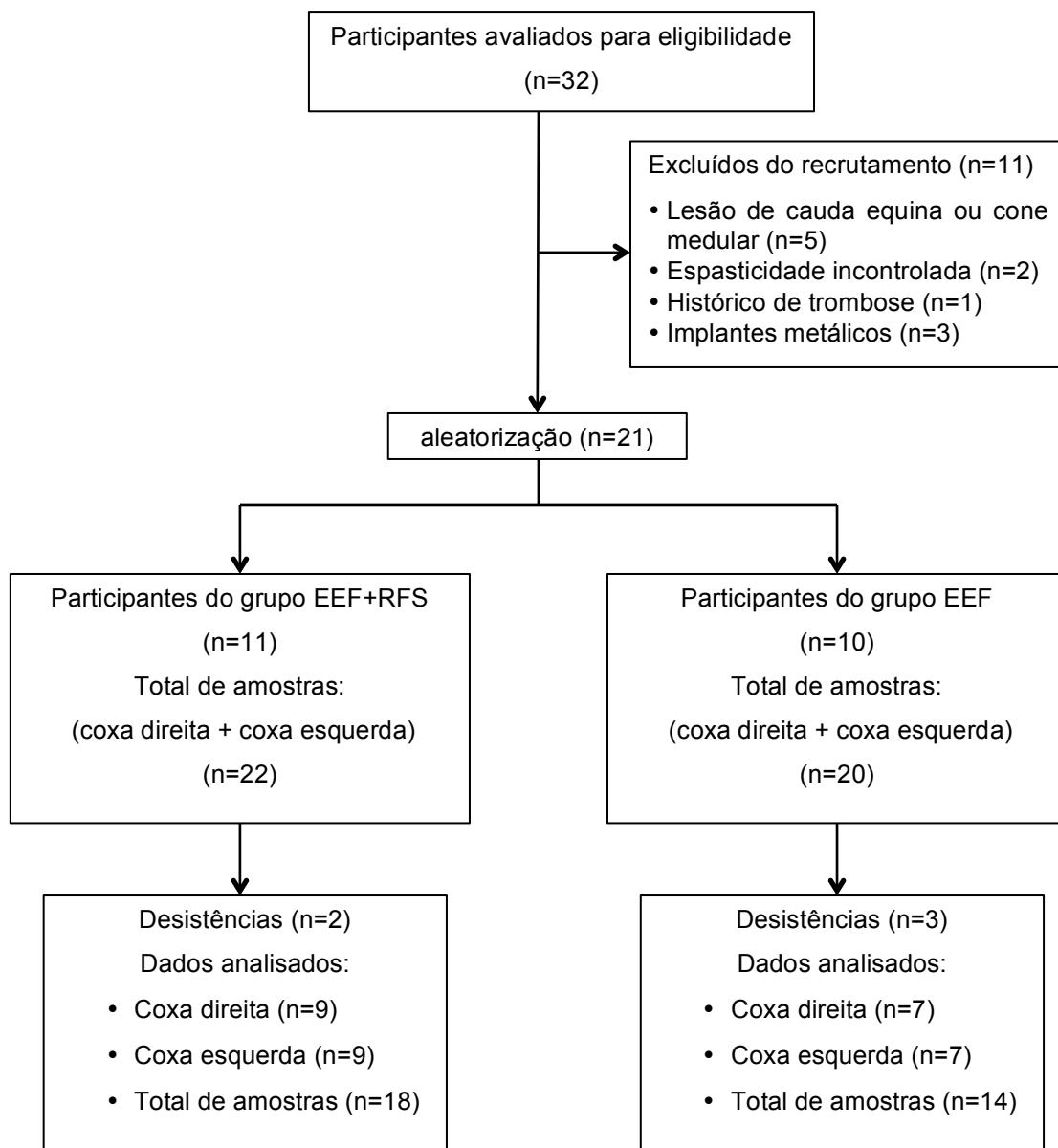


FIGURA 1 - Recrutamento e aleatorização dos grupos

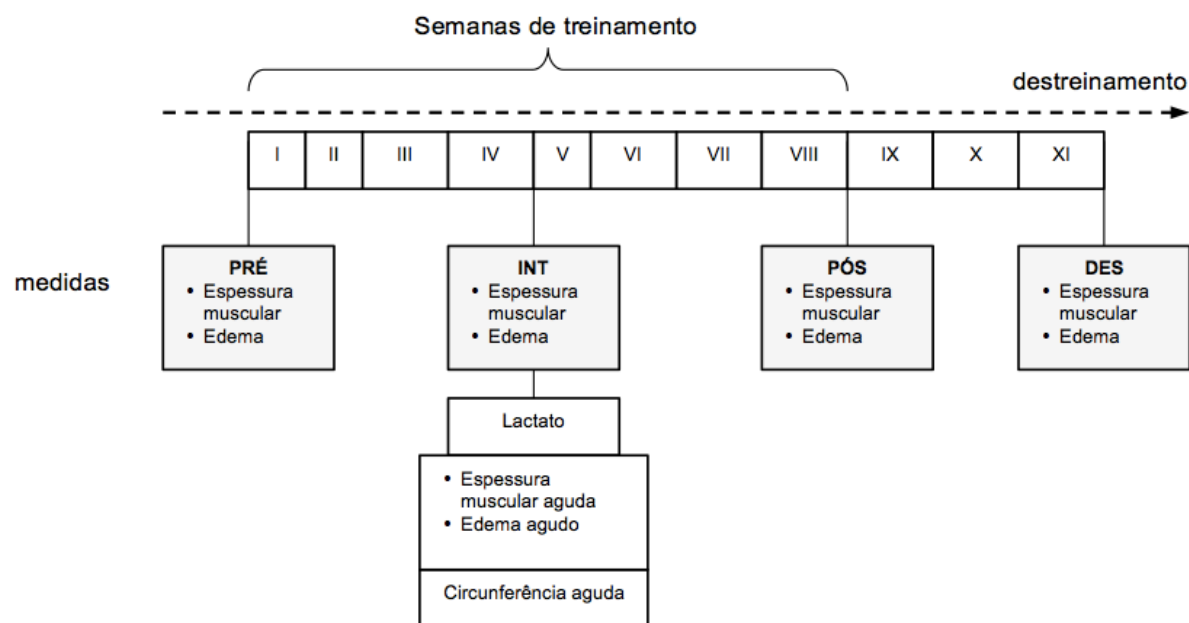


FIGURA 2 – Etapas dos procedimentos experimentais

TABELA 1 – Características individuais dos participantes do estudo

Sujeito		Idade (anos)	Estatura (cm)	Massa total (kg)	Nível da lesão	Tempo de lesão (anos)
GRUPO EEF+RFS	1	21	177	72	T4-T6	2
	2	17	169	61	T5	1
	3	27	171	69	T8	3
	4	25	183	78	T12	1
	5	40	175	89	T4	26
	6	19	180	83	T6-T9	2
	7	22	174	68	T8	3
	8	26	172	65	T7	4
	9	23	166	62	T10	2
GRUPO EEF	1	30	173	77	T6-T8	4
	2	38	178	71	T8	19
	3	24	172	87	T10	3
	4	22	175	79	T6	2
	5	18	164	69	T5-T9	1
	6	21	170	53	T7	2
	7	19	168	72	T5	2

EEF+RFS = eletro-estimulação funcional combinada com RFS; EEF = eletro-estimulação funcional. Não houve diferença entre os grupos ($p>0,05$).

4.2 Procedimentos experimentais

Foram realizadas quatro sessões idênticas para a medição da espessura muscular: PRÉ, 48 horas antes da primeira sessão de treinamento; INT, antes do início da 8ª. sessão; PÓS, 72 horas após a última sessão e DES, três semanas após o término do treinamento. Todas as medições foram realizadas aproximadamente na mesma hora do dia para se evitar a influência de uma possível movimentação de fluido intramuscular na medida da espessura muscular. Ambos os grupos (EEF+RFS e EEF) realizaram ao todo 16 sessões de treinamento, com frequência de duas sessões por semana. As sessões foram separadas por no mínimo dois dias, durante 8 semanas.

As respostas agudas após uma sessão de eletro-estimulação com (EEF+RFS) e sem oclusão (EEF) foram realizadas na 8ª. sessão (INT). Foram medidos a espessura muscular e o lactato sanguíneo. As medidas de espessura muscular aguda foram tomadas 5 minutos após o final da última série do exercício no sítio médio (50% do comprimento do segmento), que foi marcado na pele por meio de uma fita adesiva anecóica.

4.3 Medição da espessura muscular (EM) e intensidade do eco.

A espessura muscular foi medida por meio de um aparelho de ultrassonografia do modo B (Logiq Book XP, General Electric®, EUA) usando um transdutor linear de 11 MHz com 5 cm de largura (Figura 3). A pele foi marcada com um lápis dermatográfico em 30%, 50% e 70% do comprimento da coxa. O comprimento da coxa foi considerado como a distância entre o epicôndilo lateral do fêmur e o trocânter maior (Figura 4a). Um filme plástico transparente inextensível foi colocado sobre a pele para que as marcações fossem registradas com caneta permanente e documentadas para as coletas subsequentes. Cicatrizes e marcas permanentes (ex.: pintas) também foram marcadas. A espessura muscular considerada como a média das três medidas, conforme descrito por NATSUME *et al.* (2015).

Uma espessa camada de gel condutivo hidrossolúvel cobriu completamente a superfície do transdutor para fornecer uma transmissão acústica apropriada sem que houvesse depressão da pele. Os sítios de medição foram demarcados na pele com uma fita adesiva anecóica (Figura 4b), a qual forneceu uma sombra vertical de referência na imagem do ultrassom. Na medição de cada sítio, ajustes de contraste e foco foram efetuados até que a visualização dos sinais hiperecóticos (ex.: contorno ósseo e fáscias) fosse satisfatória para o registro e armazenamento das imagens.

A EM foi medida na imagem estática observada no monitor e medida por meio de um cursor eletrônico pré-calibrado pelo fabricante, com resolução de 0,01 centímetro. A EM foi considerada como a distância perpendicular entre as interfaces gordura-músculo e músculo-osso (Figura 4c). Medições lineares no compartimento anterior da coxa tem sido recentemente demonstradas como tendo uma alta relação com a AST do quadríceps (ABE *et al.*, 2015).



FIGURA 3 – Ultrassom portátil GE Logiqbook® XP e transdutor linear de 11 mhz, modelo 8L.

A reprodutibilidade das medições da EM foi calculada como o erro típico de medida (ETM). Conforme sugerido por HOPKINS (2000), o ETM é o resultante da razão entre o desvio-padrão da diferença das medidas repetidas em dois dias consecutivos (dia 1 e dia 2) e a raiz quadrada do algarismo dois:

$$ETM = \frac{\sigma(dia\ 1 - dia\ 2)}{\sqrt{2}}$$

A partir do ETM, foi calculada a mínima mudança detectável (MMD) para se determinar a mínima diferença necessária entre medidas individuais para que potenciais mudanças sejam consideradas reais. A MMD foi calculada conforme proposto por WEIR (2005):

$$MMD = ETM \cdot \sqrt{2} \cdot 1,96$$

Dessa forma, foram determinados os valores de 0,02 cm e 0,07 cm para o ETM e a MMD, respectivamente. O coeficiente de variação foi de 2,9%.

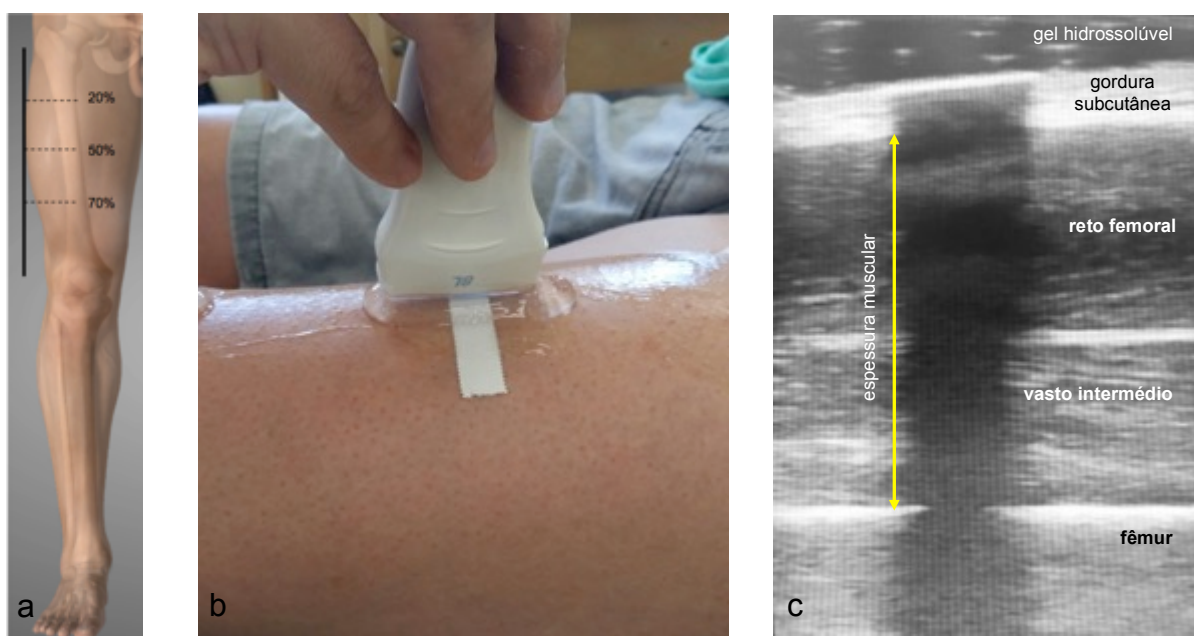


FIGURA 4 – (a) Referências anatômicas para a marcação da pele em 20%, 50% e 70% do comprimento da coxa. A média das três medidas foi considerada como a espessura muscular; (b) posicionamento do transdutor em relação à fita anecóica, (c) amostra de imagem coletada no sítio 50%, com sombra hipoeecóica de referência.

Para medir possíveis sinais de edema agudo e crônico induzidos pelo exercício, a intensidade do eco nas imagens do ultrassom foi medida e comparada por meio da intensidade dos pixels. As medições de intensidade do eco e de EM foram realizadas nas mesmas imagens obtidas em cada coleta. O software ImageJ (versão 1.5, *National Institute of Health*, Bethesda, MD, USA) foi utilizado para determinar manualmente uma área retangular de interesse nos músculos do sítio médio (50%) da coxa. O software foi calibrado a partir de uma distância conhecida nas imagens realizadas pela ferramenta de medida do equipamento de ultrassonografia. O retângulo foi padronizado com 1 cm de largura e altura correspondente à espessura muscular, excluindo-se o tecido adiposo subcutâneo e a superfície óssea (Figura 5). Os pixels dentro da área de interesse foram processados com a transformada rápida de Fourier, resultando em uma distribuição em 256 tons de cinza, sendo 0 = preto e 255 = branco. Dessa forma, pixels mais claros (hiperecóticos) podem indicar anormalidades, como edema, ao passo que o tecido muscular normal apresenta pixels mais escuros (hipoecóticos). A intensidade do eco foi calculada como a mediana dos valores dentro da área de interesse, sendo que quanto maior a mediana, maior a presença de edema. Esta técnica foi validada por LIXANDRÃO *et al.* (2014) e utilizada recentemente por DAMAS *et al.* (2016a) como uma medida de edema do tecido muscular na AST do músculo vasto lateral.

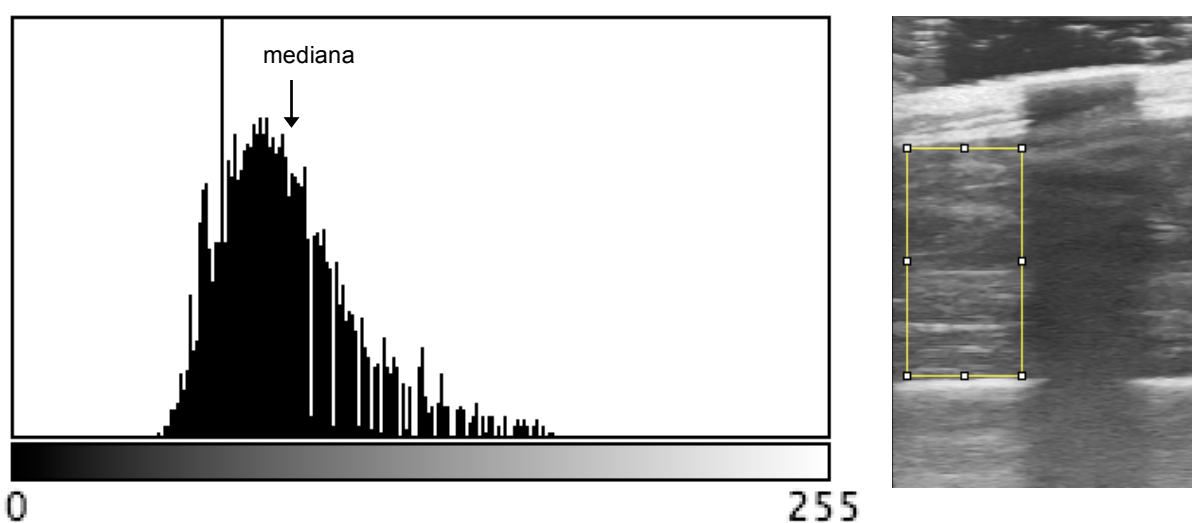


FIGURA 5 – Histograma da intensidade do eco dentro da área selecionada (retângulo amarelo) no sítio médio da coxa (50%).

4.4 Medição da concentração aguda de lactato

As respostas agudas na concentração de lactato total (mmol/l) foram medidas por meio de um lactímetro portátil (Accutrend Lactate, Roche®, EUA) (Figura 5). Amostras de sangue da ponta dos dedos foram coletadas imediatamente antes do início do exercício e 3 minutos após o final da última série. Após assepsia com álcool, a punção da ponta do dedo foi efetuada por meio de um lancetador automático. Em seguida, a ponta do dedo foi levemente pressionada até que a primeira gota de sangue fosse descartada, para evitar a contaminação da amostra. Uma segunda gota (aproximadamente 0,7 µl) foi então coletada na fita reagente e imediatamente inserida no lactímetro de acordo com as instruções do fabricante do aparelho.



FIGURA 6 – Lactímetro portátil e lancetador automático

4.5 Aplicação da restrição do fluxo sanguíneo (RFS)

A RFS foi aplicada por meio de um esfigmomanômetro (25 cm de largura x 92 cm de comprimento) (Figura 6) colocado ao redor da coxa imediatamente abaixo da prega inguinal. A pressão de RFS para o treinamento de cada participante do grupo EEF+RFS foi verificada previamente em um único teste, no qual foi medida a pressão necessária para a interrupção do pulso auscultatório da artéria tibial foi determinada com o auxílio de um aparelho *Doppler* vascular (DV-600, Martec,

Ribeirão Preto, São Paulo) (Figura 7). A pressão de treinamento foi estabelecida como sendo 50% da pressão obtida no teste. Esta magnitude de pressão tem sido demonstrada como efetiva para se produzir aumentos na massa muscular da coxa (LAURENTINO *et al.*, 2012). A pressão média de treinamento foi $65,2 \pm 7$ mmHg. A pressão do esfigmomanômetro foi mantida durante todo o protocolo da cada sessão, incluindo os intervalos entre séries, e imediatamente liberada após o final da última série. O tempo total sob pressão foi de aproximadamente 15 minutos. Nenhum participante reportou reações adversas (ex.: tontura ou cefaléia) decorrentes da RFS, durante as sessões.



FIGURA 7 – Esfigmomanômetro de coxa



FIGURA 8 – Doppler vascular

4.6 Protocolo de eletro-estimulação funcional

A eletro-estimulação funcional foi aplicada com os participantes sentados em suas próprias cadeiras de rodas, com o quadril e o joelho posicionados a aproximadamente 80° e 30° de flexão, respectivamente. Uma cunha de espuma foi posicionada sob a perna para evitar o impacto do segmento contra a estrutura da cadeira, na fase de relaxamento do ciclo de eletro-estimulação. Contrações sucessivas do quadríceps foram evocadas unilateralmente por meio da estimulação percutânea do nervo femoral usando um estimulador portátil disponível comercialmente (Dualpex 961, Quark, São Paulo, Brazil) (Figura 8). Após a tricotomia da pele e assepsia com álcool 70%, dois eletrodos autoadesivos (9 x 5 cm) foram colocados sobre a pele de forma que o eletrodo proximal foi posicionado na região do trígono femoral e o eletrodo distal foi posicionado 5 cm acima da base da patela, conforme descrito por RABISCHONG *et al.* (1992).



FIGURA 9 – Eletro-estimulador portátil

Em alguns participantes foi necessário efetuar um alongamento passivo dos músculos isquiosurais por 60 seg., para minimizar temporariamente a espasticidade dos músculos flexores do joelho (ELBASIOUNY *et al.*, 2010). Em seguida, pulsos retangulares bifásicos com 400 μ s de largura foram liberados a uma frequência de descarga de 20 Hz, com duração de ciclo de 15 seg. – *on*, 4 seg. – *off*. Este ciclo de trabalho foi mantido durante três séries de 4 minutos, com 1 minuto de intervalo

entre as séries. A amplitude de corrente foi determinada como a mínima amplitude necessária para se produzir uma extensão completa do joelho a partir de 30° de flexão. Não foi adicionada carga externa à perna durante todo o estudo, em nenhum dos grupos. Devido à rápida fadiga normalmente observada no quadríceps de pessoas com lesão medular (GERRITS *et al.*, 1999), foram necessários incrementos de 2 a 4 mA a cada 3-4 repetições, para possibilitar extensões completas até o final da série.

4.7 Tratamento estatístico

O teste de Shapiro-Wilk confirmou uma distribuição não-normal dos dados. Após uma transformação logarítmica, os dados foram testados novamente mas a inspeção dos histogramas mostrou que a distribuição não-normal foi mantida. Portanto, análises não-paramétricas foram realizadas. O teste de Friedman foi aplicado para se comparar a espessura muscular em cada grupo experimental. O teste Kruskal Wallis foi aplicado para se comparar as medidas PRÉ, INT, PÓS e DES entre ambos os grupos. Quando diferenças foram apontadas, o teste *post-hoc* de Dunn-Bonferroni com correção foi aplicado para se determinar onde estas ocorreram. As medidas agudas pré e pós de lactato e espessura muscular foram comparadas nos grupos com o teste de Wilcoxon e entre os grupos com o teste Mann Whitney. O nível de $p < 0,05$ foi adotado como estatisticamente significativo.

O cálculo dos escores Z de cada teste permitiu uma estimativa do tamanho do efeito para análises estatísticas não-paramétricas, conforme proposto por (FRITZ *et al.*, 2012):

$$r = \frac{Z}{\sqrt{N}}$$

Onde N é o total de amostras analisadas ($N = 32$ coxas). O tamanho do efeito foi interpretado $r < 0,20$ como sendo trivial, 0,20-0,49 como pequeno, 0,50-0,79 como moderado e $> 0,80$ como grande (COHEN, 2013).

As porcentagens (%) das mudanças foram calculadas a partir da equação:

$$\% \text{ da mudança} = \frac{(PÓS-PRÉ) \times 100}{PRÉ}$$

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software SPSS versão 20.0 (IBM Ltda, Chicago IL, EUA).

5 RESULTADOS

Neste capítulo serão primeiramente descritos os resultados das variáveis agudas de lactato e espessura muscular. Em seguida, serão apresentados os resultados crônicos do efeito do treinamento na espessura muscular e do destreinamento. Os valores de cada variável serão expressos na forma de medianas e intervalos interquartis (do 1º ao 3º quartil), conforme as comparações realizadas por meio de testes estatísticos não-paramétricos. Os gráficos serão apresentados na forma de gráfico do tipo *boxplot*.

Os resultados das variáveis agudas são apresentados na tabela 2. A comparação dos níveis agudos de concentração de lactato antes (BASAL) e três minutos depois (AGUDO) do término do exercício mostrou aumentos em ambos os grupos ($p < 0,05$). Depois do término do exercício, os níveis agudos de lactato foram maiores no grupo EEF+RFS, em comparação ao grupo EEF ($U = 0,000$, $p < 0,05$), $r = 0,83$. As comparações dos níveis agudos de lactato estão representados na figura 9.

O efeito do exercício na EM aguda em ambos os grupos foi analisado comparando-se as coletas imediatamente antes (BASAL) e 5 minutos após (AGUDO) o término do exercício. Houve um aumento significativo de 19,7 % e 7,6 % na EM aguda nos grupos EEF+RFS e EEF, respectivamente ($p < 0,05$). O aumento na EM aguda no grupo EEF+RFS foi maior em comparação ao grupo EEF ($U = 29$, $p < 0,05$), $r = 0,65$. As comparações da EM aguda estão representadas na figura 10.

TABELA 2 - Valores absolutos das variáveis agudas nos grupos que treinaram com eletro-estimulação combinada com restrição do fluxo sanguíneo (EEF+RFS) ou somente eletro-estimulação (EEF), nos instantes imediatamente antes do início (BASAL) e após (AGUDO) o término da sessão.

	EEF+RFS		EEF	
	BASAL	AGUDO	BASAL	AGUDO
Lactato (mmol/l)	1,8 (1,5 – 2,1)	6,1*# (5,3 – 6,5)	1,7 (1,5 – 1,8)	3,4*# (3,1 – 3,9)
EM aguda (cm)	2,33 (2,22 – 2,56)	2,79*# (2,67 – 3,01)	2,49 (2,22 – 2,64)	2,68*# (2,42 – 2,85)
Intensidade do eco (unidades arbitrárias)	43 (37 - 47)	58*# (45 – 63)	38 (35 – 41)	42*# (40 – 46)

Valores apresentados como medianas e intervalos interquartis (1^o. e 3^o). EM: espessura muscular. *Diferença significativa em relação ao basal ($p < 0,05$). #Diferença significativa entre grupos ($p < 0,05$).

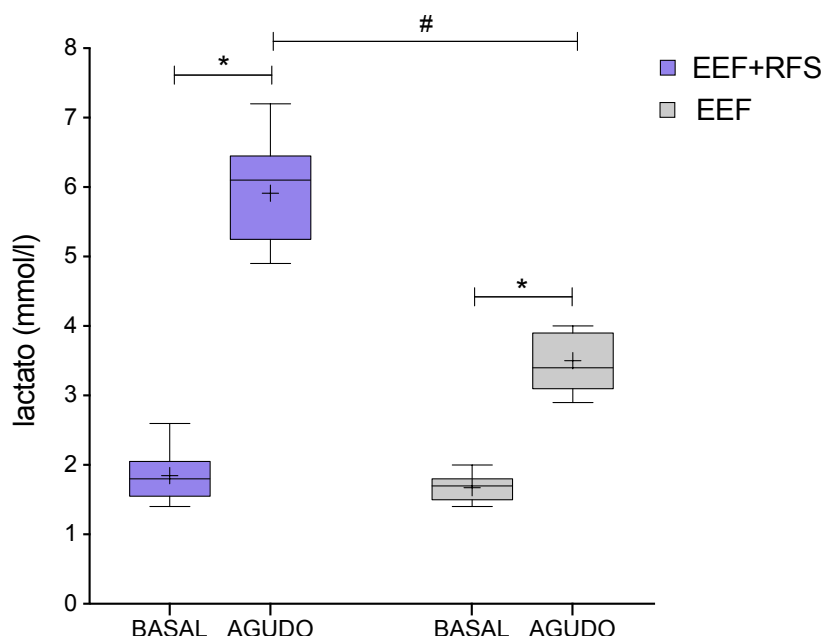


FIGURA 10 – Concentrações de lactato imediatamente antes (BASAL) e 3 minutos após o término da última série (AGUDO). *Diferença entre pré e pós ($p < 0,05$). #diferença entre os grupos ($p < 0,05$). Não houve diferença nos níveis pré entre os grupos ($p > 0,05$). O traço horizontal mostra os valores limítrofes superior e inferior, o traço central entre o 1^o. e o 3^o. quartil mostra a mediana, e a cruz mostra a média.

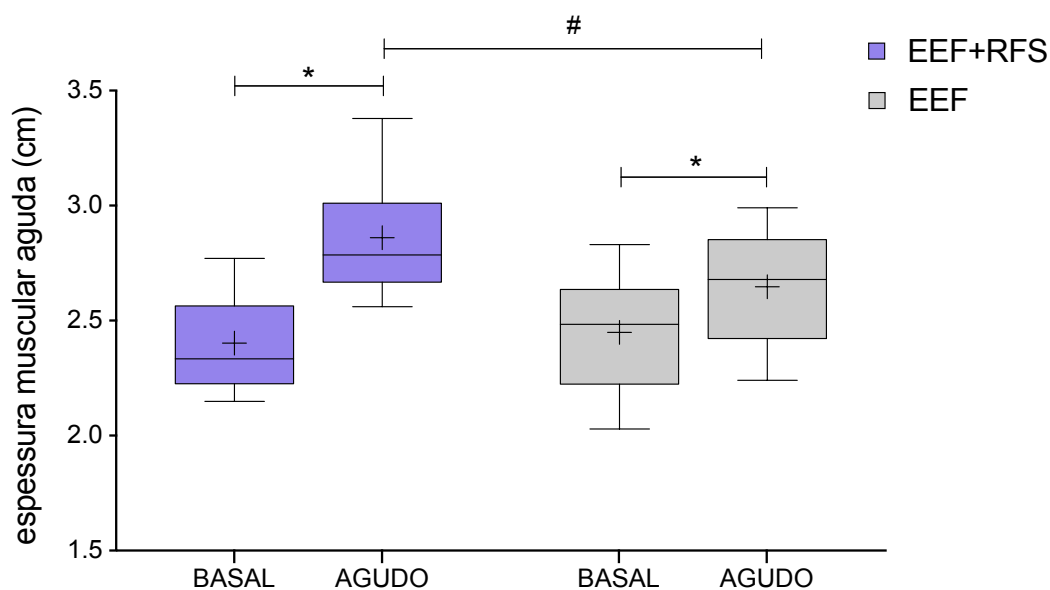


FIGURA 11 – Espessura muscular aguda imediatamente antes (BASAL) e 5 minutos após o término da última série (AGUDO). *diferença em relação ao valor basal ($p < 0,05$). #diferença entre grupos ($p < 0,05$). #diferença entre o valor agudo de ambos os grupos ($p < 0,05$). O traço horizontal mostra os valores limítrofes superior e inferior, o traço central entre o 1º e o 3º quartil mostra a mediana, e a cruz mostra a média.

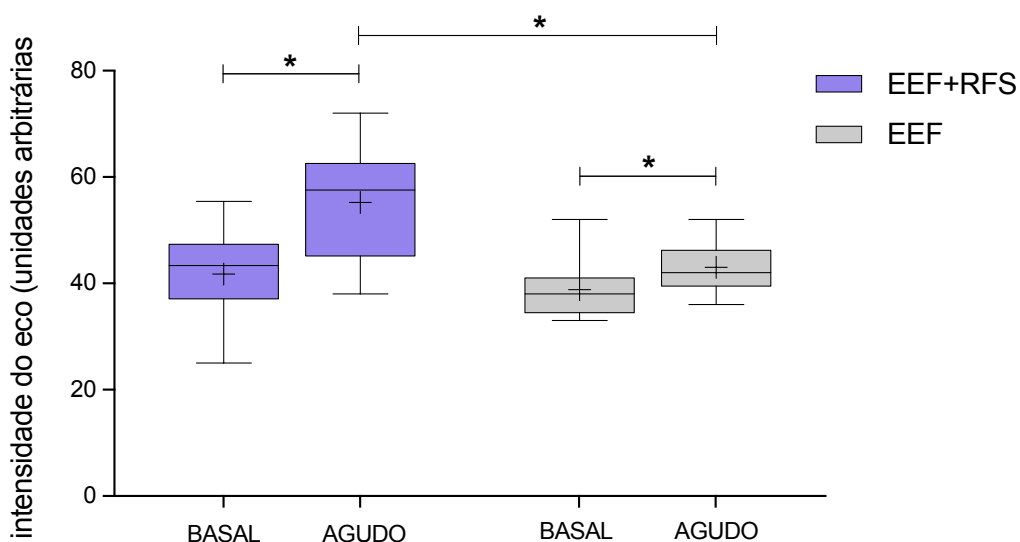


FIGURA 12 – Intensidade do eco no sítio médio da coxa (50% do comprimento) nos grupos EEF+RFS (roxo) e EEF (cinza), imediatamente antes do início da sessão (BASAL) e 5 minutos após o término da última série. *Diferença encontrada no grupo ($p < 0,05$). O traço horizontal mostra os valores limítrofes superior e inferior, o traço central entre o 1º e o 3º quartil mostra a mediana, e a cruz mostra a média.

Os resultados das variáveis crônicas são apresentados na tabela 3. Houve um aumento na EM crônica somente no grupo EEF+RFS ao longo do tempo, $\chi^2(3) = 38,430$ ($p < 0,05$). Comparações múltiplas mostraram um aumento de 11,7 % na EM da coleta PRÉ para a coleta INT ($p < 0,05$), $r = 0,61$. A EM permaneceu inalterada entre as coletas INT e PÓS ($p > 0,05$). A comparação entre a coleta PÓS e a coleta DES mostrou uma diminuição de 11,6 % na EM ($p < 0,05$), $r = 0,60$. Não foram encontradas diferenças na EM no grupo EEF ($p > 0,05$). A EM crônica foi maior nas coletas INT e PÓS do grupo EEF+RFS, em comparação ao grupo EEF ($U = 8,344$, $p < 0,05$). Não foram encontradas diferenças entre as coletas PRÉ e DES entre os grupos ($p > 0,05$). As comparações da espessura muscular crônica estão representadas na figura 12.

TABELA 3 - Valores absolutos das variáveis crônicas nos grupos que treinaram com eletro-estimulação combinada com restrição do fluxo sanguíneo (EEF+RFS) ou somente eletro-estimulação (EEF), nos instantes imediatamente antes do início (PRÉ), ao final da 4a. semana (INT), ao final da 8a. semana (PÓS) e após 3 semanas de destreinamento (DES).

	EEF+RFS		EEF	
	EM crônica (cm)	Intensidade do eco (unidades arbitrárias)	EM crônica (cm)	Intensidade do eco (unidades arbitrárias)
PRÉ	2,39 (2,28 - 2,46)	39 (35 - 41)	2,5 (2,3 - 2,7)	37 (33 - 45)
INT	2,67*# (2,53 - 2,82)	41* (37 - 43)	2,4 (2,3 - 2,7)	36 (31 - 43)
PÓS	2,66*# (2,47 - 2,76)	38 (36 - 42)	2,5 (2,3 - 2,6)	35 (32 - 47)
DES	2,35 (2,28 - 2,43)	40 (38 - 43)	2,4 (2,4 - 2,7)	40 (35 - 44)

Valores apresentados como medianas e intervalos interquartis (1^o. e 3^o). EM: espessura muscular. *Diferença significativa em relação ao PRÉ (p<0,05). #Diferença significativa entre grupos (p<0,05). #Diferença significativa entre grupos (p<0,05).

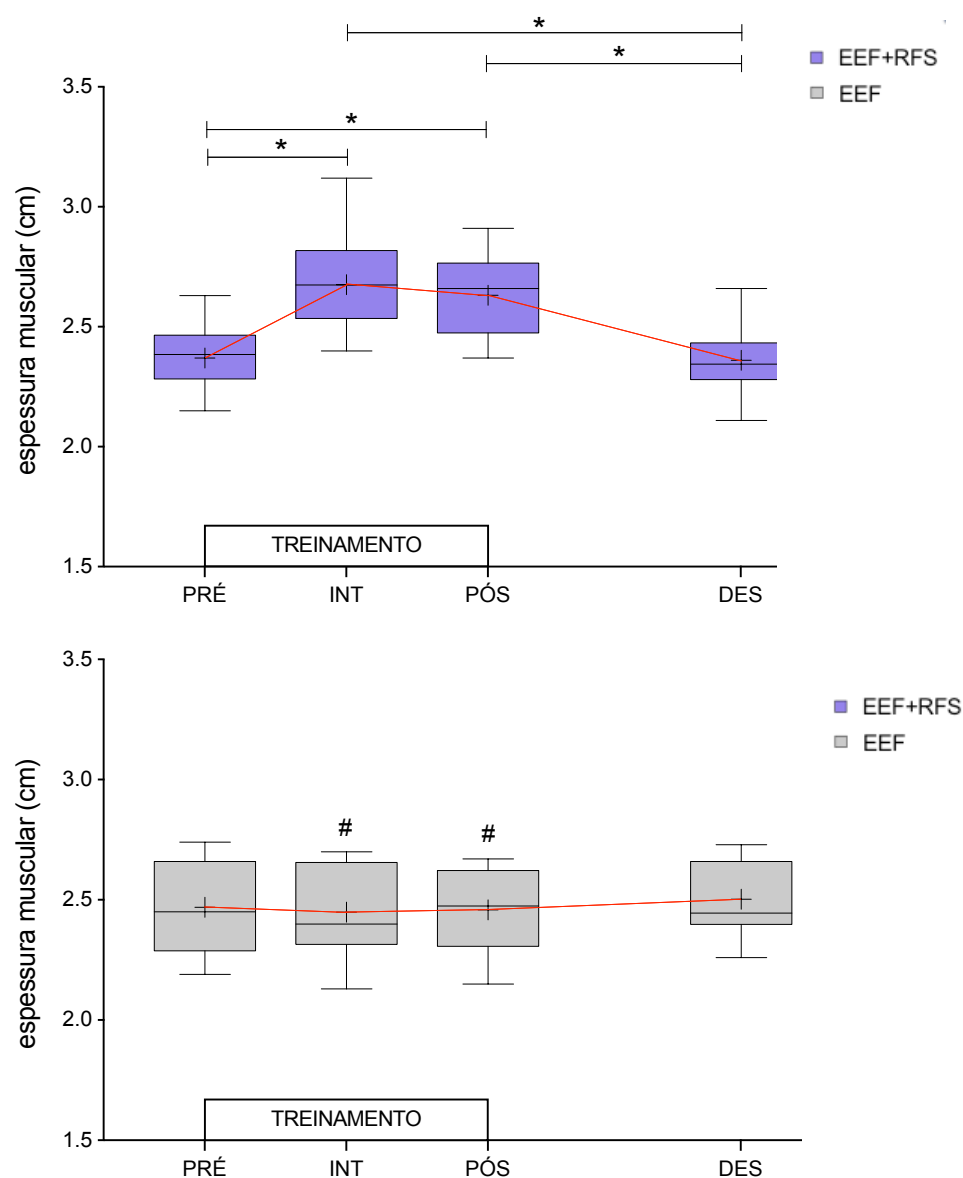


FIGURA 13 – Espessura muscular crônica dos grupos EEF+RFS (roxo) e EEF (cinza) antes do início do treinamento, ao final da 4^a. e 8^a. semanas (PRÉ, INT e PÓS, respectivamente) e após 3 semanas de destreinamento (DES). *Diferença encontrada no grupo ($p < 0,05$). #Diferença encontrada entre os grupos ($p > 0,05$). O traço horizontal mostra os valores limítrofes superior e inferior, o traço central entre o 1^o. e o 3^o. quartil mostra a mediana, e a cruz mostra a média.

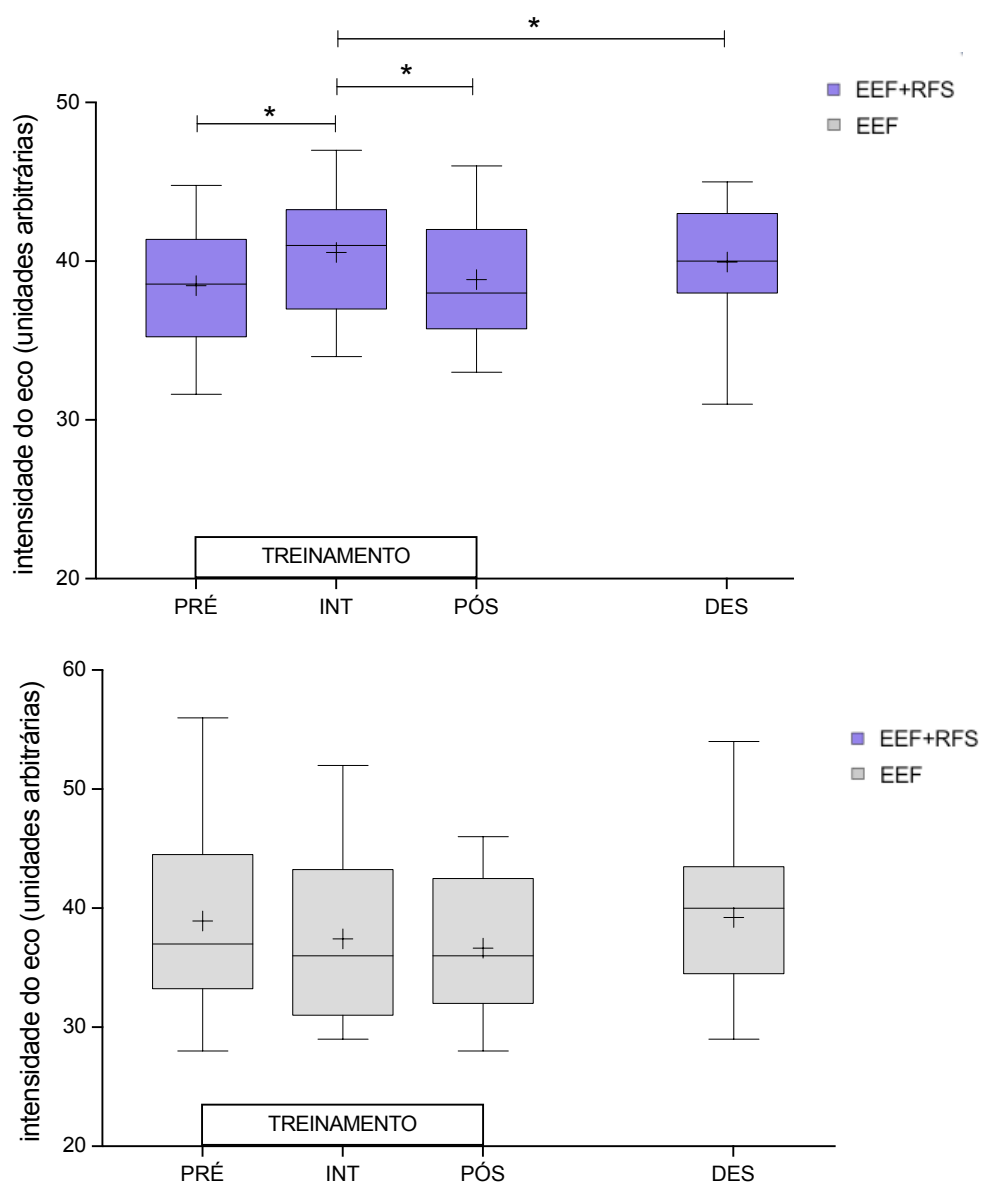


FIGURA 14 – Intensidade do eco no sítio médio da coxa (50% do comprimento) nos grupos EEF+RFS (roxo) e EEF (cinza), nas coletas antes do início do treinamento, ao final da 4^a. e 8^a. semanas (PRÉ, INT e PÓS, respectivamente) e após 3 semanas de destreinamento (DES). *Diferença encontrada no grupo ($p < 0,05$). O traço horizontal mostra os valores limítrofes superior e inferior, o traço central entre o 1^o e o 3^o quartil mostra a mediana, e a cruz mostra a média.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou e comparou os efeitos agudos e crônicos da eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com restrição do fluxo sanguíneo nos músculos extensores do joelho, em pessoas com lesão medular. O principal achado do estudo foi o aumento encontrado na espessura muscular no grupo treinamento com restrição do fluxo sanguíneo (RFS). Além disso, os aumentos agudos nos níveis de lactato e na espessura muscular neste grupo foram mais elevados em relação aos encontrados no grupo treinado sem restrição do fluxo sanguíneo, o que sugere uma influência dessas variáveis nos efeitos crônicos da eletro-estimulação combinada com a restrição do fluxo sanguíneo nos músculos paralisados de pessoas com lesão medular.

6.1. Efeitos agudos

Os níveis de lactato agudo no grupo EEF+RFS foram maiores do que os níveis encontrados no grupo EEF. Mesmo com uma intensidade de treinamento relativamente mais baixa, é notável que os níveis de lactato verificados no grupo EEF+RFS foram maiores do que aqueles encontrados em outros estudos de treinamento com restrição do fluxo sanguíneo em pessoas saudáveis (TAKARADA *et al.*, 2000b; TAKANO *et al.*, 2005; REEVES *et al.*, 2006; LOENNEKE *et al.*, 2012g; LOENNEKE *et al.*, 2016). Sabe-se que os aumentos no lactato ocorrem devido à glicólise anaeróbia e que a característica sincrônica da eletro-estimulação causa o recrutamento de todos os tipos de fibras musculares, independente da intensidade do exercício (GORGEY *et al.*, 2009). Esta observação corrobora com os achados do estudo de KJÆR *et al.* (2001), que submeteram pessoas com e sem lesão medular à eletro-estimulação e verificaram maiores elevações nos níveis de lactato em pessoas com lesão medular do que em pessoas sem lesão medular. Portanto, os achados do presente estudo mostraram que a aplicação da restrição do fluxo sanguíneo durante a eletro-estimulação funcional potencializa as elevações agudas de lactato em músculos paralisados. Deste modo, foi aceita a hipótese H_1 , de que a eletro-estimulação funcional combinada com restrição do fluxo sanguíneo produz aumentos agudos superiores nos níveis de lactato, em comparação à eletro-estimulação funcional sem restrição do fluxo sanguíneo.

A discrepância entre os grupos nas elevações agudas de lactato no presente estudo pode ser explicada pela restrição do fluxo sanguíneo durante a eletro-estimulação funcional. A pressão causada pelo esfigmomanômetro dificulta o retorno venoso, o que diminui expressivamente a remoção de metabólitos durante o exercício. De fato, YASUDA *et al.* (2010) mostraram que as elevações agudas de lactato são proporcionais à magnitude da pressão externa aplicada. Logo, é possível inferir que o grupo EEF+RFS foi treinado sob maior estresse metabólico, em comparação ao grupo EEF. Além da magnitude da pressão, evidências apontam que a intensidade do treinamento com restrição do fluxo sanguíneo também está relacionada com a magnitude das elevações agudas de lactato. Nesse sentido, LOENNEKE *et al.* (2016) mostraram que o aumento da intensidade de 20% para 30% de 1RM influenciou os níveis de lactato em pessoas saudáveis. Entretanto, os achados do presente estudo mostraram que mesmo com intensidades inferiores a 20% de 1RM, as elevações de lactato foram expressivamente maiores quando a eletro-estimulação foi combinada com a restrição do fluxo sanguíneo. Logo, os resultados do presente estudo sugerem que intensidades de treinamento e/ou pressões externas mais altas são desnecessárias para se obter elevações agudas significativas no lactato.

As menores elevações agudas de lactato no grupo EEF sugerem que este grupo foi treinado sob menor acidose metabólica, em comparação ao grupo EEF+RFS. Como o volume de treinamento foi equalizado em ambos os grupos, é possível que o grupo sem restrição do fluxo sanguíneo tenha sido submetido a um tempo sob tensão insuficiente para induzir um acúmulo de metabólitos. De fato, LOENNEKE *et al.* (2012d) mostraram que o ambiente hipóxico durante o exercício com restrição do fluxo sanguíneo fez com que o início da fadiga ocorresse antes, em comparação ao exercício sem restrição do fluxo sanguíneo. Naquele estudo, apesar do acúmulo de lactato ter sido similar em ambos os grupos, o grupo exercitado sem RFS atingiu a falha concêntrica com um volume de treinamento aproximadamente 50% maior que o grupo com restrição do fluxo sanguíneo. Portanto, no presente estudo é possível que níveis mais elevados de lactato seriam alcançados no grupo EEF se o exercício tivesse sido prolongado por mais tempo. Entretanto, altos volumes de treinamento podem não ser adequados para as características imunes, ósseas e articulares de pessoas com lesão medular.

Apesar de não haver uma relação causal entre lactato e hipertrofia muscular, a resposta aguda do lactato no exercício com restrição do fluxo sanguíneo tem sido considerada um importante marcador de estresse metabólico local (PIERCE *et al.*, 2006; REEVES *et al.*, 2006; FUJITA *et al.*, 2007). Evidências apontam que a acidose intramuscular causada pela hipóxia estimula a liberação aguda do hormônio do crescimento (GH) por meio da ativação de quimiorreflexos. Por exemplo, TAKARADA *et al.* (2000b) encontraram aumentos de até 290 vezes nos níveis séricos de GH após o exercício com restrição do fluxo sanguíneo. Naquele estudo, os aumentos nos níveis de GH foram associados ao aumento concomitante dos níveis de lactato. Logo, apesar do presente estudo não ter quantificado marcadores endócrinos, é possível especular que as elevações agudas de GH tenham sido maiores no grupo EEF+RFS.

O papel do GH na hipertrofia muscular não é completamente esclarecido. Apesar de alguns autores defenderem a manipulação das variáveis do treinamento com a finalidade de se estimular a liberação aguda de GH (GOTO *et al.*, 2003; SPIERING *et al.*, 2009), outros contestam a relevância das respostas endócrinas agudas para a hipertrofia (WEBER, 2002; RENNIE, 2003; WEST *et al.*, 2010b). No presente estudo, as elevações agudas de lactato foram verificadas devido à conhecida relação do acúmulo de metabólitos com um fenômeno agudo conhecido como “inchaço celular”, o qual tem sido recentemente apontado por vários estudos como um importante estímulo para a hipertrofia (LOENNEKE *et al.*, 2012a). Apesar dos mecanismos não serem completamente conhecidos, acredita-se que o acúmulo de metabólitos causa alterações no equilíbrio osmótico, forçando a entrada de fluido para o meio intracelular. Além disso, o inchaço celular agudo é estimulado pela rápida reperusão que ocorre após a liberação da restrição do fluxo sanguíneo, devido à alteração do gradiente de pressão (YASUDA *et al.*, 2012). Para verificar tal fenômeno, o presente estudo quantificou alterações agudas na espessura muscular (EM).

Foi observado um maior aumento agudo na EM no grupo EEF+RFS, em comparação ao grupo EEF. Diversos fatores influenciam na EM aguda, incluindo a hiperemia reativa causada pelas contrações musculares (JOYNER *et al.*, 2015), o acúmulo de metabólitos (KRISTENSEN *et al.*, 1980), a ação de substâncias

vasodilatadoras, como o óxido nítrico (SMITH *et al.*, 2002) e a formação de edema (YANAGISAWA *et al.*, 2003). Como o volume e a intensidade do treinamento foram similares entre os grupos, a restrição do fluxo sanguíneo parece estar relacionada com o maior aumento agudo na EM. Uma possibilidade para explicar tal diferença é ativação de mecanismos mecano-sensitivos na parede das arteríolas e o aumento da síntese de óxido nítrico, que é um importante vasodilatador (KOLLER *et al.*, 2002). Portanto, foi aceita a hipótese H₂, na qual a eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com restrição do fluxo sanguíneo produz um maior aumento agudo na EM, em comparação ao exercício sem restrição do fluxo sanguíneo.

Outra possibilidade que pode explicar parcialmente o maior aumento na EM no grupo EEF+RFS é a formação de edema imediatamente após o exercício. É bem conhecido que o exercício de alta intensidade produz edema agudo, sobretudo quando realizado com contrações excêntricas (YANAGISAWA *et al.*, 2003). Porém, os achados do presente estudo mostraram que o exercício de baixa intensidade, mesmo sem contrações excêntricas, produz edema agudo em músculos afetados pela lesão medular. Um dos mecanismos propostos para se explicar este fenômeno é o maior fluxo plasmático após a liberação da restrição do fluxo sanguíneo, o que tende a aumentar o fluxo transmural de água, dos capilares para o interstício (WATSON *et al.*, 1993). Além disso, o acúmulo de metabólitos parece também contribuir para o transporte de água para o tecido (FLECKENSTEIN *et al.*, 1991). Portanto, os achados permitem confirmar a hipótese H₃, na qual a eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com RFS causa edema imediatamente após o término da sessão.

Destaca-se o fato que a magnitude do aumento agudo na EM observado no presente estudo foi menor do que aquela observada por LOENNEKE *et al.* (2016) em pessoas saudáveis. Naquele estudo, aumentos de 0,5 mm foram observados na EM aguda do músculo reto femoral, ao passo que no presente estudo os aumentos foram de 0,3 mm na espessura agrupada dos músculos reto femoral e vasto intermédio. De fato, estudos apontam que a magnitude da reperfusão é relacionada com o tamanho dos músculos afetados pela lesão medular (OLIVE *et al.*, 2003). Por outro lado, o aumento na EM aguda no presente estudo sugere que a função

endotelial continuou preservada, apesar dos efeitos deletérios da lesão medular. Este achado corrobora com estudos que mostraram que a função vascular periférica não é necessariamente afetada pela lesão medular (VENTURELLI *et al.*, 2014).

Apesar dos mecanismos do inchaço celular não serem completamente conhecidos, o movimento de fluídos da circulação sanguínea para dentro do músculo parece estar associado à uma família de canais de água chamados de aquaporinas. Especificamente, a aquaporina-4 (AQP4) é o principal canal de água encontrado no sarcolema de fibras do tipo II (FRIGERI *et al.*, 1998). Portanto, é possível especular que, devido a prevalência de mais de 90% de fibras do tipo II no músculo atrofiado (GORGEY *et al.*, 2014), os músculos afetados pela lesão medular tem uma alta responsividade à hipertrofia por meio do treinamento com restrição do fluxo sanguíneo. Segundo a teoria do inchaço celular, o acúmulo de metabólitos no meio intracelular força a AQP4 a equilibrar os gradientes osmóticos transportando água rapidamente para dentro da célula. Assim, a retenção de água no sarcoplasma resulta na deformação do sarcolema, o que por sua vez estimula o crescimento através de vias de sinalização de mecanotransdução (HORNBERGER *et al.*, 2004).

Evidências apontam que a magnitude da hiperemia reativa tem sido mostrada como sendo dependente da duração da restrição do fluxo sanguíneo (KRISTENSEN *et al.*, 1980; KOLLER *et al.*, 2002). No presente estudo, o tempo total de restrição do fluxo sanguíneo ao final de uma sessão (aproximadamente 14 minutos) parece ter sido suficiente para promover a hiperemia reativa com a magnitude necessária para induzir ao inchaço celular no grupo EEF+RFS e, conseqüentemente, causar um estímulo hipertrófico. Destaca-se que o grupo EEF também apresentou um aumento significativo na EM aguda, embora inferior ao grupo EEF+RFS. Portanto, é possível especular que o inchaço celular tenha ocorrido em menor magnitude no grupo EEF. De fato, independente da aplicação de restrição do fluxo de sangue, as contrações isométricas parecem ter também um efeito na EM aguda. Nesse sentido, o estudo de WESCHE (1986), investigou a magnitude das alterações na velocidade do sangue na artéria femoral após contrações isométricas no quadríceps de pessoas saudáveis, a 10% da contração voluntária máxima. Naquele estudo, houve um aumento na velocidade do fluxo

sanguíneo de até quatro vezes a velocidade em repouso, após contrações isométricas de 5 segundos.

É possível que a aplicação da restrição do fluxo sanguíneo por períodos mais longos poderiam causar maiores aumentos agudos na EM. Entretanto, não há evidências que mostrem uma relação linear entre a magnitude da hiperemia reativa e o efeito hipertrófico. Além disso, é importante ressaltar que pessoas com lesão medular apresentam um maior potencial para sofrerem danos na parede do endotélio e trombose venosa profunda (MIRANDA *et al.*, 2000). Por isso, estímulos por períodos mais longos de restrição do fluxo sanguíneo nesta população podem trazer riscos que superam os benefícios. Durante o presente estudo não foram reportados sinais de lesão vascular ou trombose em nenhum dos participantes.

Há divergências entre os estudos de treinamento com restrição do fluxo sanguíneo no que diz respeito à magnitude ótima da pressão que possa produzir os maiores ganhos, com segurança (LOENNEKE *et al.*, 2013a). Devido ao potencial risco de trombose venosa profunda nos membros inferiores de pessoas com lesão medular (MIRANDA *et al.*, 2000), a pressão aplicada no presente estudo foi baseada na menor pressão reportada por outros estudos que mostraram hipertrofia por meio de treinamento com restrição do fluxo sanguíneo (VECHIN *et al.*, 2015). Além disso, é bem conhecido que esfigmomanômetros mais largos podem ocluir o fluxo de sangue com pressões menores, comparados a esfigmomanômetros mais estreitos (LOENNEKE *et al.*, 2011b). A circunferência da coxa também tem sido apontada como um fator determinante na magnitude da pressão (SHAW *et al.*, 1982). Isto é particularmente relevante na aplicação da restrição do fluxo sanguíneo na coxa de pessoas com lesão medular, devido à circunferência relativamente menor em relação à coxa de pessoas saudáveis.

Um fenômeno que foi observado em alguns participantes durante as sessões pode ser considerado como variável interveniente nos efeitos agudos. Mesmo com amplitudes de corrente baixas, foi observada a ocorrência do fenômeno denominado *spill over*. O *spill over* ocorre quando as amplitudes de corrente elétrica eventualmente propagam-se para ramos de nervos adjacentes ao nervo femoral. Dessa forma, músculos flexores do joelho (ex.: sartório e grácil) também são

ativados e produzem uma contração (TRIOLO *et al.*, 2001). De fato, no presente estudo o *spill over* foi observado durante as sessões de treinamento, em alguns participantes. Isso causou a co-contração de músculos flexores do joelho, a qual passou a impedir extensões completas no final da última série de estimulação. Portanto, a co-contração pode ter causado uma maior elevação nos níveis de lactato, devido à atividade metabólica de outros músculos extrínsecos ao quadríceps. Além disso, se outros músculos foram recrutados, pode-se especular que a reperfusão sanguínea nesses músculos tenha contribuído para o aumento agudo da espessura muscular da coxa.

6.2 Efeitos crônicos

No que diz respeito aos efeitos crônicos observados no presente estudo, os aumentos encontrados na EM corroboram com os achados do estudo de NATSUME *et al.* (2015), que submeteu indivíduos saudáveis a duas semanas de eletro-estimulação combinada com restrição do fluxo sanguíneo, com duas sessões diárias, cinco dias por semana. Destaca-se o fato que naquele estudo, houve um aumento de 3.9% na EM do quadríceps após 20 sessões de treinamento, ao passo que no presente estudo o grupo EEF+RFS mostrou um aumento de 11,7 % após 8 sessões (4^a. semana). Tais achados sugerem que o presente estudo induziu respostas crônicas mais expressivas do que as encontradas por NATSUME *et al.* (2015), mesmo tendo aplicado um volume de treinamento menor. Além disso, ressalta-se o fato que no presente estudo a EM do grupo EEF permaneceu inalterada, corroborando com os resultados do grupo controle no estudo de NATSUME *et al.* (2015), que também foi submetido somente à eletro-estimulação funcional. Portanto, os achados do presente estudo permitem confirmar a hipótese H₄, de que a eletro-estimulação funcional de baixa intensidade promove aumentos crônicos na EM, quando realizada em combinação com restrição do fluxo sanguíneo.

Apesar de não ter sido quantificada, é possível inferir que a intensidade de treinamento que foi aplicada no presente estudo foi relativamente menor do que a aplicada por NATSUME *et al.* (2015). Naquele estudo, o treinamento foi realizado em um dinamômetro isocinético com contrações evocadas a 5-10% da contração voluntária máxima, ao passo que no presente estudo o peso da perna foi a única

resistência imposta contra as extensões do joelho. Isto sugere que os músculos afetados pela lesão medular podem ser responsivos a cargas de treinamento expressivamente menores do que as aplicadas por NATSUME *et al.* (2015), para produzir um aumento na EM em pessoas saudáveis. Entretanto, a ausência de aumentos no grupo controle (somente eletro-estimulação) de ambos os estudos indica que a eficácia da eletro-estimulação de baixa intensidade depende da aplicação da restrição do fluxo sanguíneo. Logo, os achados do presente estudo sugerem que a carga não é uma variável importante quando o objetivo é promover aumentos na EM de músculos afetados pela lesão medular.

A amplitude da corrente aplicada para evocar as contrações foi relativamente menor do que aquelas reportadas por outros estudos com eletro-estimulação funcional em pessoas com lesão medular. Por exemplo, no início da 1ª. série de cada sessão de treinamento, a amplitude da corrente necessária para se obter uma extensão completa do joelho foi de aproximadamente 46 mA. Com a fadiga, determinada pela falha em se alcançar uma extensão completa do joelho, a amplitude da corrente era ajustada em incrementos de 2 mA. Dessa forma, ao final da 3ª série a amplitude da corrente foi de no máximo 80 mA em alguns participantes. É interessante notar que tais magnitudes foram muito menores do que as reportadas por outros estudos para evocar contrações no quadríceps de pessoas com lesão medular. Nesse sentido, o estudo de GERRITS *et al.* (1999) aplicou 142 mA para obter 30% da contração máxima. Um outro estudo mostrou que o pico de força foi obtido com uma amplitude de corrente de aproximadamente 220 mA (LEVY *et al.*, 1990). Portanto, o presente estudo mostrou que mesmo que a fadiga demande ajustes progressivos na amplitude da corrente durante a sessão, os valores máximos foram relativamente baixos, em relação aos reportados na literatura. Isso pode ter relevância no sentido de se minimizar os riscos da aplicação clínica do método, além de possibilitar o uso de equipamentos comercialmente disponíveis, de baixa capacidade.

Os aumentos na EM na 4ª. semana mostraram que efeitos crônicos do treinamento com restrição do fluxo sanguíneo podem ser induzidos com uma frequência de 2 sessões por semana. De fato, uma meta-análise mostrou que duas a três sessões são suficientes para promover efeitos crônicos (LOENNEKE *et al.*,

2012h), apesar de alguns autores sugerirem sessões diárias (ABE *et al.*, 2005a; ABE *et al.*, 2005b; YASUDA *et al.*, 2005; FUJITA *et al.*, 2008). Nesse sentido, sessões menos frequentes podem aumentar a aderência ao programa de treinamento, sem comprometer os ganhos.

O aumento da intensidade do eco nas imagens do ultrassom na 4^a. semana de treinamento sugere que o aumento observado na EM crônica pode ser atribuído à formação de edema. Portanto, a hipótese H₅ foi confirmada. De fato, estudos recentes sugerem que aumentos no tamanho muscular detectados nas primeiras 3 a 4 semanas de exercícios resistidos podem ser atribuídos predominantemente ao inchaço celular causado por edema (DAMAS *et al.*, 2016a; DAMAS *et al.*, 2016b). As microlesões causadas pelo exercício levam à infiltração de fluido no espaço intersticial. Logo, acredita-se que o inchaço muscular resultante pode ser confundido como sendo hipertrofia. Além disso, apesar da força muscular não ter sido quantificada no presente estudo, uma possível hipertrofia levaria a um aumento concomitante na capacidade dos músculos produzirem força. Dessa forma, com o passar das semanas, seria esperada uma diminuição da amplitude da corrente necessária para se realizar a mesma tarefa, devido a adaptações na contratilidade (GORGEY *et al.*, 2013a). Entretanto, esta inferência não pode ser confirmada, visto que nenhum dos participantes teve reduções na amplitude da corrente ao longo do treinamento.

Destaca-se o fato que o grupo EEF não apresentou aumentos crônicos na EM, o que indica que a restrição do fluxo sanguíneo parece ter uma relação com a formação de edema em músculos afetados pela lesão medular. Vários estudos apontaram sinais de microlesões após o treinamento com restrição do fluxo sanguíneo em músculos de pessoas sedentárias, mesmo com cargas baixas e ausência de contrações excêntricas (TAKARADA *et al.*, 2000b; UMBEL *et al.*, 2009; WERNBOM *et al.*, 2012; THIEBAUD *et al.*, 2013). Entretanto, é importante ressaltar que a magnitude do dano muscular é muito menor em comparação ao dano provocado pelo exercício de alta intensidade. Apesar dos mecanismos das microlesões induzidas pelo treinamento com restrição do fluxo sanguíneo não estarem esclarecidos, especula-se que a reperusão sanguínea após a restrição do fluxo sanguíneo causa um expressivo aumento de espécies reativas de oxigênio, as

quais são associadas ao dano nas células musculares (MURPHY *et al.*, 2008). Dessa forma, inicia-se uma resposta inflamatória na qual ondas sucessivas de neutrófilos e macrófagos invadem rapidamente o local da lesão, amplificando-o. Em seguida, complexos processos de reparo e crescimento são ativados, podendo persistir durante dias (TIDBALL, 2011; DENG *et al.*, 2012). Em pessoas com lesão medular esses processos podem ser ainda mais lentos, devido ao comprometimento imunológico comumente apresentado nesta população (IVERSEN *et al.*, 2000). Portanto, a aplicação de sessões de treinamento com restrição do fluxo sanguíneo em dias consecutivos pode acumular efeitos inflamatórios e, por isso, ser contraindicada nesta população.

Uma possibilidade para se explicar a ausência de aumentos na EM crônica no grupo EEF é a equalização do volume de treinamento entre os grupos. De fato, outros estudos mostraram que quando o volume de treinamento é equalizado entre os grupos que treinaram com e sem restrição do fluxo sanguíneo, o exercício de baixa intensidade sem restrição do fluxo sanguíneo não apresentou aumentos crônicos no tamanho do músculo (TAKARADA *et al.*, 2000e; TAKARADA *et al.*, 2002; FUJITA *et al.*, 2008; FAHS *et al.*, 2015). Entretanto, outros estudos mostraram aumentos similares no tamanho do músculo quando o exercício sem restrição do fluxo sanguíneo foi realizado até a falha concêntrica (BARCELOS *et al.*, 2015; FAHS *et al.*, 2015). Nesse sentido, BARCELOS *et al.* (2015) mostraram que o trabalho total (número de repetições x carga) foi expressivamente maior no grupo que treinou sem restrição do fluxo sanguíneo. Portanto, é possível inferir que o grupo EEF não foi exercitado por um tempo sob tensão suficiente para se promover aumentos na EM. Os efeitos da eletro-estimulação funcional até a falha concêntrica em músculos afetados pela lesão medular não são conhecidos. Portanto, deve-se considerar que estímulos repetitivos mantidos por períodos prolongados podem ser lesivos para articulações comprometidas pelo longo período de imobilidade.

No presente estudo, a possibilidade de ocorrência de microlesões foi minimizada com o cuidado de se eliminar a ocorrência de contrações excêntricas. O ciclo de trabalho do eletro-estimulador foi programado para interromper abruptamente a corrente elétrica após cada contração isométrica, o que causou o relaxamento imediato do quadríceps e o rápido retorno (por gravidade) da perna

para a posição inicial. Entretanto, o estudo de BICKEL *et al.* (2004b) mostrou que contrações isométricas podem também causar microlesões em músculos paralisados de pessoas com lesão medular. Por isso, a ausência de contrações excêntricas no presente estudo não anula completamente a possibilidade de microlesões. Outro fator que tem sido apontado como relevante na produção de microlesões causadas pelo exercício é o comprimento do músculo durante a produção de força. NOSAKA *et al.* (2005) mostraram que o dano muscular pode ser atenuado quando a amplitude de movimento é mantida em posições nas quais o músculo está encurtado. Por isso, no presente estudo a amplitude de movimento no joelho foi limitada de 30° a 0° de flexão, com o propósito de se evitar grandes amplitudes de alongamento do quadríceps, minimizando-se o dano muscular.

Deve-se ressaltar que apesar da diminuição da intensidade do eco observada no grupo EEF+RFS ser um indicador de edema, observou-se que a intensidade do eco aumentou da 4^a. para a 8^a. semana de treinamento. Como o edema diminuiu sem ter havido uma concomitante diminuição da EM, não se pode descartar a possibilidade de hipertrofia muscular. É bem conhecido que a incidência de dano muscular causado pelo exercício após as primeiras semanas de treinamento pode ser atenuada ou mesmo evitada nas semanas subsequentes do mesmo exercício, devido a um fenômeno denominado “efeito da carga repetida” (MCHUGH *et al.*, 1999). Esse efeito atua como um mecanismo de proteção contra o acúmulo de dano muscular, conforme evidenciado em estudos com pessoas saudáveis NOSAKA *et al.* (2011) e em pessoas com lesão medular (SLADE *et al.*, 2004). Evidências apontam que este efeito protetor pode perdurar por até seis meses (NOSAKA *et al.*, 2001). Portanto, devido ao efeito protetor da carga repetida, a ocorrência de hipertrofia muscular não pode ser descartada, pois é possível que o aumento observado na EM no grupo EEF+RFS na 4^a semana possa ser atribuído à hipertrofia, acompanhada de pouco ou nenhum edema.

Diversos fatores podem explicar a ocorrência de hipertrofia concomitante ao aumento observado na EM crônica, no grupo EEF+EM. É bem conhecido que músculos sedentários são mais responsivos do que músculos exercitados regularmente, visto que estes estão mais próximos do seu limite adaptativo (HÄKKINEN, 1994). Além disso, estudos apontam um possível efeito do treinamento

com RFS na diminuição da expressão da miostatina (LAURENTINO *et al.*, 2012). A miostatina desempenha um importante papel na regulação da síntese de proteína muscular e tem sido apontada como capaz de induzir atrofia sob condições de imobilização (ELLIOTT *et al.*, 2012). De fato, evidências tem demonstrado que a atrofia muscular em pessoas com lesão medular está diretamente associada a um aumento na expressão da miostatina e uma consequente diminuição do conteúdo de células-satélites na fibra muscular (VERDIJK *et al.*, 2012). Evidências apontam que a expressão da miostatina é maior nas fibras do tipo II (CARLSON *et al.*, 1999). Isto pode explicar a responsividade do músculo paralisado a estímulos hipertróficos, uma vez que as fibras do tipo I sofrem transformação para fibras do tipo II poucas semanas após a lesão medular, podendo resultar em uma predominância de mais de 90% de fibras do tipo II (VERDIJK *et al.*, 2012; GORGEY *et al.*, 2014). Logo, no presente estudo é possível que o treinamento com restrição do fluxo sanguíneo tenha causado um estímulo suficiente para inibir da expressão da miostatina e levar a uma subsequente proliferação de células-satélites no músculo paralisado.

A importância das células-satélites na responsividade ao treinamento de hipertrofia foi destacada por uma recente revisão de literatura (GUNDERSEN, 2016). Acredita-se que mesmo após a atrofia severa as fibras musculares mantêm seus mionúcleos, os quais parecem estar associados com o volume da célula (GREGORY, 2001). Assim, com o fornecimento de um estímulo adequado, o percurso da recuperação do tamanho da célula antes da atrofia parece ser mais rápido (BRUUSGAARD *et al.*, 2012; EGNER *et al.*, 2013). Tal fenômeno tem sido reportado na literatura do treinamento de força e hipertrofia como “memória muscular” (TAAFFE *et al.*, 1997; GUNDERSEN, 2016). Assim, é possível que os ganhos na EM observados no grupo EEF+RFS na 4ª semana sejam parcialmente explicados pela permanência do número de mionúcleos nas fibras musculares do quadríceps, mesmo após meses ou anos de imobilização.

Outra possível explicação para a possibilidade de hipertrofia no grupo EEF+RFS é a característica glicolítica das fibras do tipo II. BURGOMASTER *et al.* (2003) mostraram que o treinamento com restrição do fluxo sanguíneo leva a um aumento das reservas de glicogênio em repouso. É bem conhecido que o glicogênio potencializa um efeito osmótico, através do qual atrai 3g de água para dentro da

célula para cada grama de glicogênio muscular (CHAN *et al.*, 1981). Dessa forma, um aumento nas reservas de glicogênio muscular pode mediar um balanço proteico favorável, por meio de hidratação celular (RIBEIRO *et al.*, 2014). A atividade contrátil sob hipóxia leva a um aumento expressivo na captação de glicose e, conseqüentemente, na disponibilidade de glicogênio muscular (AZEVEDO *et al.*, 1995; WOJTASZEWSKI *et al.*, 1998; FLUCKEY *et al.*, 1999). Acredita-se que tal fenômeno seja causado por aumentos transitórios na translocação dos transportadores GLUT-4 ao sarcolema, o que promove a absorção de glicose após o exercício. A diminuição da oferta de oxigênio durante as contrações do exercício com RFS parece amplificar esse efeito (BURGOMASTER *et al.*, 2003).

Outro fator que pode explicar a responsividade dos músculos paralizados a estímulos hipertróficos é a predominância de fibras do tipo II. É bem conhecido que fibras glicolíticas do tipo II são mais responsivas a estímulos hipertróficos, comparadas às fibras oxidativas do tipo I (TESCH *et al.*, 1985). Por exemplo, no estudo de (FUJITA *et al.*, 2008), o treinamento com restrição do fluxo sanguíneo promoveu um aumento de 27,6% nas fibras do tipo II, ao passo que o tamanho das fibras do tipo I permaneceram inalteradas. Portanto, os resultados no grupo EEF sugerem que a eletro-estimulação de baixa intensidade sem restrição do fluxo sanguíneo pode ter sido insuficiente para se causar um estímulo anabólico.

Destaca-se o fato de que não foi encontrada uma continuidade nos aumentos da EM da 4ª para a 8ª semana no grupo EEF+RFS. Entretanto, destaca-se que não houve perdas na EM durante esse período. Vários fatores podem ser sugeridos para explicar esses resultados. Primeiro, no decorrer das semanas do treinamento, o volume e a intensidade do treinamento não foram progressivamente ajustados. De acordo com o princípio da sobrecarga, à medida em que o músculo adapta-se ao treinamento, a intensidade precisa ser incrementada para se promover a continuidade dos ganhos (PLOUTZ *et al.*, 1994). Nesse sentido, SCREMIN *et al.* (1999) investigaram o efeito da eletro-estimulação funcional no quadríceps de pessoas com lesão medular, em três fases: duas fases com exercícios de cargas progressivas e uma terceira fase com cargas constantes em um ciclo-ergômetro. Os autores observaram aumentos de 31% na AST do reto femoral e no vasto intermédio somente nas fases em que havia incrementos nas cargas, ao passo que se manteve

inalterada na fase com carga constante. DUDLEY *et al.* (1999) reportaram um aumento de 20% na AST no quadríceps de pessoas com lesão medular, após 8 semanas de eletro-estimulação funcional com incrementos progressivos de até 11,5 Kg de carga adicionada à perna. BALDI *et al.* (1998) mostraram aumentos na massa muscular dos membros inferiores após seis meses de eletro-estimulação funcional em um ciclo-ergômetro, com incrementos progressivos de 6 Watts na carga, quando três sessões consecutivas era completadas a 50 rotações por minuto.

É importante ressaltar que no presente estudo a carga (somente o peso da perna) foi mantida constante porque buscou-se investigar o efeito de um modelo de treinamento que promova hipertrofia com o mínimo de estresse mecânico. A vantagem da aplicação de cargas baixas está em se preservar o músculo contra potenciais lesões (LOENNEKE *et al.*, 2012b). A partir dos resultados do presente estudo, é plausível afirmar que a continuidade dos aumentos na EM após a quarta semana demandam incrementos na carga de treinamento. Entretanto, considerando os riscos e as características dos participantes, incrementos aleatórios na carga requerem cautela e merecem futuras investigações. Pode-se especular também que um aumento no volume de treinamento (ex.: tempo sob tensão) no presente estudo poderia ter promovido a continuidade dos ganhos a partir da 4ª semana. De fato, evidências apontam que músculos de membros inferiores demandam um maior volume nas fases iniciais do treinamento (PAULSEN *et al.*, 2003). No presente estudo, o tempo sob tensão e o número de séries foi mantido o mesmo (4 minutos/série, por 3 séries). Entretanto, deve-se considerar que um volume maior de treinamento em músculos e articulações fragilizados pela imobilidade crônica poderia aumentar o risco de lesões em pessoas com lesão medular.

Após 3 semanas de destreinamento, observou-se que a EM no grupo EEF+RFS retornou aos valores iniciais da coleta PRÉ, em uma taxa média estimada de 0,5% por dia, permitindo assim confirmar a hipótese H₇. Tais achados corroboram com o estudo de YASUDA *et al.* (2015b), que verificou o efeito do destreinamento após 6 semanas de treinamento com restrição do fluxo sanguíneo em pessoas saudáveis e observaram que, após 3 semanas de destreinamento, a AST retornou aos níveis basais. Destaca-se que a taxa de mudança estimada no presente estudo foi significativamente superior à taxa reportada por NATSUME *et al.* (2015), de 0,2%

por dia. Tais achados mostram que a ausência completa de atividade nos músculos afetados pela lesão medular acelerou expressivamente o retorno da EM aos valores iniciais.

Os mecanismos dos efeitos do destreinamento sobre a massa muscular não são completamente conhecidos. Estudos indicam que as vias de sinalização de um regulador negativo da síntese de proteínas, a miostatina, e de um regulador positivo, o *mammalian target of rapamycin* (mTOR), podem ter uma importante influência na massa muscular durante o destreinamento. De fato, a miostatina pode inibir a hipertrofia por meio da supressão da sinalização do mTOR e a subsequente miogênese (TRENDELENBURG *et al.*, 2009). Além disso, estudos mostraram que a lesão medular diminui a expressão de miogenina, um importante fator de regulação positiva da síntese de proteínas (DRUMMOND *et al.*, 2008b). Apesar do presente estudo não ter analisado fatores de expressão dos genes, os resultados do destreinamento permitem inferir que o músculo paralizado tem características que levam a uma menor capacidade de retenção dos efeitos crônicos da eletroestimulação combinada com restrição do fluxo sanguíneo.

7 CONCLUSÕES

O presente estudo teve como objetivo geral determinar os efeitos agudos e crônicos da eletro-estimulação funcional de baixa intensidade combinada com restrição do fluxo de sangue (EEF+RFS) nos músculos paralizados de homens com lesão medular completa. Os objetivos específicos compreenderam verificar e comparar os efeitos do treinamento de eletro-estimulação funcional com e sem restrição do fluxo sanguíneo sobre:

- os níveis agudos pós-exercício de lactato sanguíneo;
- a espessura aguda pós-exercício dos músculos do compartimento anterior da coxa;
- a formação de edema imediatamente após o término da sessão;
- a espessura muscular crônica dos músculos do compartimento anterior da coxa;
- a formação de edema nas primeiras semanas de treinamento;
- o efeito crônico do destreinamento na espessura muscular após 3 semanas de interrupção do treinamento;

Os achados do presente estudo permitem concluir que:

- a EEF de baixa intensidade combinada com RFS induz a maiores aumentos agudos no lactato sanguíneo, em comparação à EEF sem RFS;
- a EEF de baixa intensidade combinada com RFS induz a maiores aumentos da espessura muscular aguda, em comparação à EEF sem RFS;

- a EEF de baixa intensidade combinada com RFS induz à formação de edema em poucos minutos após o término da sessão;
- a EEF de baixa intensidade combinada com RFS promove aumentos na espessura muscular crônica nas primeiras quatro semanas de treinamento, que se mantém mas não aumentam após oito semanas de treinamento;
- a EEF de baixa intensidade sem RFS não promove aumentos crônicos na espessura muscular;
- o treinamento com RFS produz edema nas primeiras 4 semanas de treinamento;
- a interrupção do treinamento com EEF combinada com RFS leva ao retorno da espessura muscular aos níveis basais, após 3 semanas de destreinamento.

Portanto, é possível afirmar que a eletro-estimulação funcional combinada com restrição do fluxo sanguíneo causa aumentos crônicos na espessura muscular de músculos afetados pela lesão medular nas quatro primeiras semanas de treinamento, e que tais aumentos podem ser atribuídos por edema e hipertrofia, concomitantemente. Além disso, a espessura muscular retorna aos valores iniciais após 3 semanas de um período de destreinamento.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi o primeiro a mostrar que os músculos afetados pela lesão medular são responsivos à eletro-estimulação funcional de baixa intensidade, quando combinada com restrição do fluxo sanguíneo. Os aumentos agudos na espessura muscular e nos níveis de lactato parecem ser suficientes para se promover um estímulo anabólico. Entretanto, é possível que o parte do aumento observado tenha sido causado pela formação de edema, concomitante à hipertrofia muscular, devido à alta suscetibilidade de dano nos músculos afetados pela lesão medular. Considerando que não há um consenso na literatura a respeito dos melhores parâmetros de eletro-estimulação funcional nem de aplicação da restrição do fluxo sanguíneo para promover hipertrofia, futuros estudos com outros parâmetros são recomendados.

Limitações do estudo

Uma das limitações foi a ausência de um grupo controle que fosse submetido somente à restrição do fluxo sanguíneo sem eletro-estimulação, o que possibilitaria a investigação dos efeitos agudos e crônicos isolados da restrição do fluxo sanguíneo.

Outra limitação é a ausência de marcadores sanguíneos de dano muscular (creatina quinase ou mioglobina), que possibilitariam analisar uma correlação com a intensidade do eco obtidos nas imagens de ultrassom.

Por fim, mais medições sucessivas da espessura muscular aguda e do lactato poderiam fornecer informações sobre o curso temporal destas variações.

REFERÊNCIAS

- ABE, T. et al. Day-to-day change in muscle strength and MRI-measured skeletal muscle size during 7 days KAATSU resistance training: A case study. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 1, n. 2, p. 71-76, 2005a.
- ABE, T. et al. Eight days KAATSU-resistance training improved sprint but not jump performance in collegiate male track and field athletes. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 1, n. 1, p. 19-23, 2005b.
- ABE, T.; KEARNS, C. F.; SATO, Y. Muscle size and strength are increased following walk training with restricted venous blood flow from the leg muscle, Kaatsu-walk training. **J Appl Physiol (1985)**, v. 100, n. 5, p. 1460-6, May 2006.
- ABE, T. et al. Validity of ultrasound prediction equations for total and regional muscularity in middle-aged and older men and women. **Ultrasound Med Biol**, v. 41, n. 2, p. 557-64, Feb 2015.
- ABE, T. et al. Skeletal muscle size and circulating IGF-1 are increased after two weeks of twice daily" KAATSU" resistance training. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 1, n. 1, p. 6-12, 2005c.
- ACSM. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 41, n. 3, p. 687, 2009.
- ALESSIO, H. M. et al. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n. 9, p. 1576-1581, 2000.
- ARIJA-BLAZQUEZ, A. et al. Effects of electromyostimulation on muscle and bone in men with acute traumatic spinal cord injury: A randomized clinical trial. **J Spinal Cord Med**, v. 37, n. 3, p. 299-309, May 2014.
- ARNOLD, H.; DELLA-FERA, M.; BAILE, C. Review of myostatin history, physiology and applications. **Int Arch Biosci**, v. 2001, p. 1014-1022, 2001.
- AZEVEDO, J. L. et al. Hypoxia stimulates glucose transport in insulin-resistant human skeletal muscle. **Diabetes**, v. 44, n. 6, p. 695-698, 1995.
- BALDI, J. C. et al. Muscle atrophy is prevented in patients with acute spinal cord injury using functional electrical stimulation. **Spinal cord**, v. 36, n. 7, p. 463-469, 1998.
- BARCELOS, L. C. et al. Low-load resistance training promotes muscular adaptation regardless of vascular occlusion, load, or volume. **Eur J Appl Physiol**, Mar 3 2015.

BAUMAN, W. A.; SPUNGEN, A. M. Disorders of carbohydrate and lipid metabolism in veterans with paraplegia or quadriplegia: a model of premature aging. **Metabolism**, v. 43, n. 6, p. 749-756, 1994.

BÉLANGER, M. et al. Electrical stimulation: can it increase muscle strength and reverse osteopenia in spinal cord injured individuals? **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 81, n. 8, p. 1090-1098, 2000.

BENEVENTO, B. T.; SIPSKI, M. L. Neurogenic bladder, neurogenic bowel, and sexual dysfunction in people with spinal cord injury. **Physical Therapy**, v. 82, n. 6, p. 601-612, 2002.

BICKEL, C. S.; SLADE, J. M.; DUDLEY, G. A. Long-term spinal cord injury increases susceptibility to isometric contraction-induced muscle injury. **Eur J Appl Physiol**, v. 91, n. 2-3, p. 308-13, Mar 2004a.

BICKEL, C. S.; SLADE, J. M.; DUDLEY, G. A. Long-term spinal cord injury increases susceptibility to isometric contraction-induced muscle injury. **European journal of applied physiology**, v. 91, n. 2-3, p. 308-313, 2004b.

BIERING - SØRENSEN, F.; BOHR, H.; SCHAADT, O. Longitudinal study of bone mineral content in the lumbar spine, the forearm and the lower extremities after spinal cord injury. **European journal of clinical investigation**, v. 20, n. 3, p. 330-335, 1990.

BOSY-WESTPHAL, A. et al. Effect of organ and tissue masses on resting energy expenditure in underweight, normal weight and obese adults. **International journal of obesity**, v. 28, n. 1, p. 72-79, 2004.

BRUUSGAARD, J. C. et al. No change in myonuclear number during muscle unloading and reloading. **J Appl Physiol (1985)**, v. 113, n. 2, p. 290-6, Jul 2012.

BURGOMASTER, K. A. et al. Resistance training with vascular occlusion: metabolic adaptations in human muscle. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 7, p. 1203-8, Jul 2003.

CARLSON, C. J.; BOOTH, F. W.; GORDON, S. E. Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, n. 2, p. R601-R606, 1999.

CARRARO, U. Modulation of trophism and fiber type expression of denervated muscle by different patterns of electrical stimulation. **Basic Appl Myol**, v. 12, n. 6, p. 263-271, 2002.

CASTRO, M. J. et al. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle cross-sectional area within the first 6 months of injury. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 80, n. 4, p. 373-378, 1999.

CHAN, S. et al. Early weight gain and glycogen-obligated water during nutritional rehabilitation. **Human nutrition. Clinical nutrition**, v. 36, n. 3, p. 223-232, 1981.

CHEN, H. L. et al. Two maximal isometric contractions attenuate the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 37, n. 4, p. 680-9, Aug 2012.

CHILIBECK, P. D. et al. Functional electrical stimulation exercise increases GLUT-1 and GLUT-4 in paralyzed skeletal muscle. **Metabolism**, v. 48, n. 11, p. 1409-1413, 1999.

CLANTON, T. L. Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 6, p. 2379-2388, 2007a.

_____. Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 6, p. 2379-2388, 2007b.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. Academic press, 2013.

CRAMERI, R. et al. Effects of electrical stimulation - induced leg training on skeletal muscle adaptability in spinal cord injury. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 12, n. 5, p. 316-322, 2002.

CRAMERI, R. M. et al. Effects of electrical stimulation leg training during the acute phase of spinal cord injury: a pilot study. **European journal of applied physiology**, v. 83, n. 4-5, p. 409-415, 2000.

CRENSHAW, A. G. et al. Wide tourniquet cuffs more effective at lower inflation pressures. **Acta Orthop Scand**, v. 59, n. 4, p. 447-51, Aug 1988.

CURRIER, D. P.; PETRILLI, C. R.; THRELKELD, A. J. Effect of graded electrical stimulation on blood flow to healthy muscle. **Physical therapy**, v. 66, n. 6, p. 937-943, 1986.

DAMAS, F. et al. Early resistance training-induced increases in muscle cross-sectional area are concomitant with edema-induced muscle swelling. **Eur J Appl Physiol**, v. 116, n. 1, p. 49-56, Jan 2016a.

_____. An inability to distinguish edematous swelling from true hypertrophy still prevents a completely accurate interpretation of the time course of muscle hypertrophy. **Eur J Appl Physiol**, v. 116, n. 2, p. 445-6, Feb 2016b.

DAUTY, M. et al. Supralesional and sublesional bone mineral density in spinal cord-injured patients. **Bone**, v. 27, n. 2, p. 305-309, 2000.

DEFREITAS, J. M. et al. An examination of the time course of training-induced skeletal muscle hypertrophy. **European journal of applied physiology**, v. 111, n. 11, p. 2785-2790, 2011.

DELEY, G. et al. Effects of electrical stimulation pattern on quadriceps isometric force and fatigue in individuals with spinal cord injury. **Muscle & nerve**, 2015.

DENG, B. et al. IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration. **J Immunol**, v. 189, n. 7, p. 3669-80, Oct 1 2012.

DOLBOW, J. D. et al. The effects of aging and electrical stimulation exercise on bone after spinal cord injury. **Aging Dis**, v. 4, n. 3, p. 141-53, Jun 2013.

DRUMMOND, M. J. et al. Human muscle gene expression following resistance exercise and blood flow restriction. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 4, p. 691-8, Apr 2008a.

DRUMMOND, M. J. et al. Gene and protein expression associated with protein synthesis and breakdown in paraplegic skeletal muscle. **Muscle & nerve**, v. 37, n. 4, p. 505-513, 2008b.

DUCKWORTH, W. C. et al. Glucose intolerance due to insulin resistance in patients with spinal cord injuries. **Diabetes**, v. 29, n. 11, p. 906-910, 1980.

DUDLEY, G. et al. A simple means of increasing muscle size after spinal cord injury: a pilot study. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 80, n. 4, p. 394-396, 1999.

DUPONT-VERSTEEGDEN, E. E. et al. Early changes in muscle fiber size and gene expression in response to spinal cord transection and exercise. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 275, n. 4, p. C1124-C1133, 1998.

EGNER, I. M. et al. A cellular memory mechanism aids overload hypertrophy in muscle long after an episodic exposure to anabolic steroids. **The Journal of physiology**, v. 591, n. 24, p. 6221-6230, 2013.

ELBASIOUNY, S. M. et al. Management of spasticity after spinal cord injury: current techniques and future directions. **Neurorehabilitation and neural repair**, v. 24, n. 1, p. 23-33, 2010.

ELDER, C. et al. Intramuscular fat and glucose tolerance after spinal cord injury—a cross-sectional study. **Spinal Cord**, v. 42, n. 12, p. 711-716, 2004a.

ELDER, C. P. et al. Intramuscular fat and glucose tolerance after spinal cord injury—a cross-sectional study. **Spinal Cord**, v. 42, n. 12, p. 711-6, Dec 2004b.

ELLIOTT, B. et al. The central role of myostatin in skeletal muscle and whole body homeostasis. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 205, n. 3, p. 324-40, Jul 2012.

FAGHRI, P. et al. Feasibility of using two FNS exercise modes for spinal cord injured patients. **Clin Kinesiol**, v. 43, n. 3, p. 62-68, 1989.

FAHS, C. A. et al. Muscular adaptations to fatiguing exercise with and without blood flow restriction. **Clinical physiology and functional imaging**, v. 35, n. 3, p. 167-176, 2015.

FARUP, J. et al. Blood flow restricted and traditional resistance training performed to fatigue produce equal muscle hypertrophy. **Scand J Med Sci Sports**, Jan 21 2015.

FLECKENSTEIN, J. L. et al. Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers. **American Journal of Roentgenology**, v. 151, n. 2, p. 231-237, 1988.

FLECKENSTEIN, J. L. et al. Absence of exercise-induced MRI enhancement of skeletal muscle in McArdle's disease. **Journal of Applied Physiology**, v. 71, n. 3, p. 961-969, 1991.

FLUCKEY, J.; PLOUG, T.; GALBO, H. Mechanisms associated with hypoxia-and contraction-mediated glucose transport in muscle are fibre-dependent. **Acta physiologica scandinavica**, v. 167, n. 1, p. 83-87, 1999.

FREY-RINDOVA, P. et al. Bone mineral density in upper and lower extremities during 12 months after spinal cord injury measured by peripheral quantitative computed tomography. **Spinal cord**, v. 38, n. 1, p. 26-32, 2000.

FRIGERI, A. et al. Expression of aquaporin-4 in fast-twitch fibers of mammalian skeletal muscle. **Journal of Clinical Investigation**, v. 102, n. 4, p. 695, 1998.

FRISCH, H. Growth hormone and body composition in athletes. **Journal of endocrinological investigation**, v. 22, n. 5 Suppl, p. 106-109, 1998.

FRITZ, C. O.; MORRIS, P. E.; RICHLER, J. J. Effect size estimates: current use, calculations, and interpretation. **Journal of Experimental Psychology: General**, v. 141, n. 1, p. 2, 2012.

FROTZLER, A. et al. Bone steady-state is established at reduced bone strength after spinal cord injury: a longitudinal study using peripheral quantitative computed tomography (pQCT). **Bone**, v. 43, n. 3, p. 549-555, 2008.

FRY, C. S. et al. Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle protein synthesis in older men. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 5, p. 1199-1209, 2010.

FUJITA, S. et al. Blood flow restriction during low-intensity resistance exercise increases S6K1 phosphorylation and muscle protein synthesis. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 3, p. 903-10, Sep 2007.

FUJITA, T. et al. Increased muscle volume and strength following six days of low-intensity resistance training with restricted muscle blood flow. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2008.

FULLE, S. et al. The contribution of reactive oxygen species to sarcopenia and muscle ageing. **Experimental gerontology**, v. 39, n. 1, p. 17-24, 2004.

GARLAND, D. E. et al. Osteoporosis after spinal cord injury. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, n. 3, p. 371-378, 1992.

GATER, D. R. Obesity after spinal cord injury. **Physical medicine and rehabilitation clinics of North America**, v. 18, n. 2, p. 333-351, 2007.

GERRITS, H. et al. Contractile properties of the quadriceps muscle in individuals with spinal cord injury. **Muscle & nerve**, v. 22, n. 9, p. 1249-1256, 1999.

GIANGREGORIO, L.; MCCARTNEY, N. Bone loss and muscle atrophy in spinal cord injury: epidemiology, fracture prediction, and rehabilitation strategies. **The journal of spinal cord medicine**, v. 29, n. 5, p. 489, 2006.

GOLDFARB, A. H. et al. Resistance exercise effects on blood glutathione status and plasma protein carbonyls: influence of partial vascular occlusion. **European journal of applied physiology**, v. 104, n. 5, p. 813-819, 2008.

GOODPASTER, B. H.; WOLF, D. Skeletal muscle lipid accumulation in obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes. **Pediatric diabetes**, v. 5, n. 4, p. 219-226, 2004.

GORDON, T.; MAO, J. Muscle atrophy and procedures for training after spinal cord injury. **Physical Therapy**, v. 74, n. 1, p. 50-60, 1994.

GORGEY, A. S. et al. Effects of electrical stimulation parameters on fatigue in skeletal muscle. **journal of orthopaedic & sports physical therapy**, v. 39, n. 9, p. 684-692, 2009.

GORGEY, A. S. et al. Differences in current amplitude evoking leg extension in individuals with spinal cord injury. **NeuroRehabilitation**, v. 33, n. 1, p. 161-170, 2013a.

GORGEY, A. S. et al. Neuromuscular electrical stimulation attenuates thigh skeletal muscles atrophy but not trunk muscles after spinal cord injury. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 23, n. 4, p. 977-984, 2013b.

GORGEY, A. S. et al. Effects of spinal cord injury on body composition and metabolic profile - part I. **J Spinal Cord Med**, v. 37, n. 6, p. 693-702, Nov 2014.

GORGEY, A. S. et al. The effects of electrical stimulation on body composition and metabolic profile after spinal cord injury—Part II. **The journal of spinal cord medicine**, v. 38, n. 1, p. 23-37, 2015.

GORGEY, A. S.; DUDLEY, G. A. Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 45, n. 4, p. 304-9, Apr 2007.

GORGEY, A. S. et al. Effects of neuromuscular electrical stimulation parameters on specific tension. **European journal of applied physiology**, v. 97, n. 6, p. 737-744, 2006.

GORGEY, A. S.; SHEPHERD, C. Skeletal muscle hypertrophy and decreased intramuscular fat after unilateral resistance training in spinal cord injury: case report. **The journal of spinal cord medicine**, v. 33, n. 1, p. 90, 2010.

GORGEY, A. S. et al. Electrical stimulation and blood flow restriction increase wrist extensor cross-sectional area and flow mediated dilatation following spinal cord injury. **European Journal of Applied Physiology**, p. 1-14, 2016.

GOTO, K.; SATO, K.; TAKAMATSU, K. A single set of low intensity resistance exercise immediately following high intensity resistance exercise stimulates growth hormone secretion in men. **Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 43, n. 2, p. 243, 2003.

GREGORY, T. Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cellsize, and the C - value enigma. **Biological reviews**, v. 76, n. 1, p. 65-101, 2001.

GRIFFIN, L. et al. Functional electrical stimulation cycling improves body composition, metabolic and neural factors in persons with spinal cord injury. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 19, n. 4, p. 614-622, 2009.

GROAH, S. L. et al. Intensive electrical stimulation attenuates femoral bone loss in acute spinal cord injury. **Pm r**, v. 2, n. 12, p. 1080-7, Dec 2010.

GRUNER, J. A. A System for Evaluation and Exercise-Conditioning~~ of ParaUyzed Leg Musc0esa. 1983.

GUNDERMANN, D. M. et al. Reactive hyperemia is not responsible for stimulating muscle protein synthesis following blood flow restriction exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 9, p. 1520-1528, 2012.

GUNDERSEN, K. Muscle memory and a new cellular model for muscle atrophy and hypertrophy. **J Exp Biol**, v. 219, n. Pt 2, p. 235-42, Jan 2016.

GUYTON, A. C. et al. **Tratado de fisiologia médica**. Elsevier, 2011.

HAGEN, E. M. et al. Cardiovascular complications of spinal cord injury. **Tidsskrift for den Norske laegeforening: tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke**, v. 132, n. 9, p. 1115-1120, 2012.

HÄKKINEN, K. Neuromuscular adaptation during strength training, aging, detraining, and immobilization. **Critical Reviews in Physical and Rehabilitation Medicine**, v. 6, p. 161-161, 1994.

HANDAYANINGSIH, A.-E. et al. Reactive oxygen species play an essential role in IGF-I signaling and IGF-I-induced myocyte hypertrophy in C2C12 myocytes. **Endocrinology**, v. 152, n. 3, p. 912-921, 2011.

HARTKOPP, A. et al. Bone fracture during electrical stimulation of the quadriceps in a spinal cord injured subject. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 79, n. 9, p. 1133-1136, 1998.

HAUSSINGER, D. et al. Cellular hydration state: an important determinant of protein catabolism in health and disease. **Lancet**, v. 341, n. 8856, p. 1330-2, May 22 1993.

HENNEMAN, E.; SOMJEN, G.; CARPENTER, D. O. FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF CELL SIZE IN SPINAL MOTONEURONS. **J Neurophysiol**, v. 28, p. 560-80, May 1965.

HJELTNES, N. et al. Improved body composition after 8 wk of electrically stimulated leg cycling in tetraplegic patients. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 273, n. 3, p. R1072-R1079, 1997.

HOPKINS, W. G. Measures of reliability in sports medicine and science. **Sports Med**, v. 30, n. 1, p. 1-15, Jul 2000.

HORNBERGER, T. A.; ESSER, K. A. Mechanotransduction and the regulation of protein synthesis in skeletal muscle. **Proc Nutr Soc**, v. 63, n. 2, p. 331-5, May 2004.

ISHII, N. et al. Circuit training without external load induces hypertrophy in lower-limb muscles when combined with moderate venous occlusion. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 1, n. 1, p. 24-28, 2005.

IVERSEN, P. O. et al. Depressed immunity and impaired proliferation of hematopoietic progenitor cells in patients with complete spinal cord injury. **Blood**, v. 96, n. 6, p. 2081-3, Sep 15 2000.

JACKSON, M. J. Free radicals generated by contracting muscle: by-products of metabolism or key regulators of muscle function? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, n. 2, p. 132-141, 2008.

JIANG, S.-D.; DAI, L.-Y.; JIANG, L.-S. Osteoporosis after spinal cord injury. **Osteoporosis International**, v. 17, n. 2, p. 180-192, 2006.

JOHNSON, P. C. et al. Effect of occlusion duration on reactive hyperemia in sartorius muscle capillaries. **Am J Physiol**, v. 230, n. 3, p. 715-9, Mar 1976.

JOYNER, M. J.; CASEY, D. P. Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs. **Physiol Rev**, v. 95, n. 2, p. 549-601, Apr 2015.

KARABULUT, M. et al. Overview of neuromuscular adaptations of skeletal muscle to KAATSU training. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2007.

KARABULUT, M. et al. The effects of low-intensity resistance training with vascular restriction on leg muscle strength in older men. **Eur J Appl Physiol**, v. 108, n. 1, p. 147-55, Jan 2010.

KEATING, J.; KERR, M.; DELARGY, M. Minimal trauma causing fractures in patients with spinal cord injury. **Disability and rehabilitation**, v. 14, n. 2, p. 108-109, 1992.

KERN, H. et al. Denervated muscles in humans: limitations and problems of currently used functional electrical stimulation training protocols. **Artificial organs**, v. 26, n. 3, p. 216-218, 2002.

KJÆR, M. et al. Fatty acid kinetics and carbohydrate metabolism during electrical exercise in spinal cord-injured humans. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 281, n. 5, p. R1492-R1498, 2001.

KOLLER, A.; BAGI, Z. On the role of mechanosensitive mechanisms eliciting reactive hyperemia. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 283, n. 6, p. H2250-9, Dec 2002.

KOSEK, D. J. et al. Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. **Journal of Applied Physiology**, v. 101, n. 2, p. 531-544, 2006.

KRAEMER, W. J. et al. Changes in hormonal concentrations after different heavy-resistance exercise protocols in women. **J Appl Physiol (1985)**, v. 75, n. 2, p. 594-604, Aug 1993.

KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. **Sports Med**, v. 35, n. 4, p. 339-61, 2005.

KRENTZ, J. R.; FARTHING, J. P. Neural and morphological changes in response to a 20-day intense eccentric training protocol. **European journal of applied physiology**, v. 110, n. 2, p. 333-340, 2010.

KRISTENSEN, J. K.; HENRIKSEN, O. Excess cumulative blood flow and repayment during reactive hyperemia in human cutaneous tissue. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 108, n. 1, p. 1-6, 1980.

LANG, F. Mechanisms and significance of cell volume regulation. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. sup5, p. 613S-623S, 2007.

LAURENTINO, G. et al. Effects of strength training and vascular occlusion. **Int J Sports Med**, v. 29, n. 8, p. 664-7, Aug 2008.

LAURENTINO, G. C. et al. Strength training with blood flow restriction diminishes myostatin gene expression. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 3, p. 406-412, 2012.

LEE, S.-J. Regulation of muscle mass by myostatin. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 20, p. 61-86, 2004.

LEVY, M.; MIZRAHI, J.; SUSAK, Z. Recruitment, force and fatigue characteristics of quadriceps muscles of paraplegics isometrically activated by surface functional electrical stimulation. **J Biomed Eng**, v. 12, n. 2, p. 150-6, Mar 1990.

LIN, J. et al. Myostatin knockout in mice increases myogenesis and decreases adipogenesis. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 291, n. 3, p. 701-706, 2002.

LIU, C.-W. et al. Effects of functional electrical stimulation on peak torque and body composition in patients with incomplete spinal cord injury. **The Kaohsiung journal of medical sciences**, v. 23, n. 5, p. 232-240, 2007.

LIXANDRÃO, M. E. et al. Vastus Lateralis muscle cross-sectional area ultrasonography validity for image fitting in humans. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 28, n. 11, p. 3293-3297, 2014.

LOENNEKE, J. et al. The anabolic benefits of venous blood flow restriction training may be induced by muscle cell swelling. **Medical hypotheses**, v. 78, n. 1, p. 151-154, 2012a.

LOENNEKE, J. P. et al. Blood flow restriction: an evidence based progressive model (Review). **Acta Physiol Hung**, v. 99, n. 3, p. 235-50, Sep 2012b.

LOENNEKE, J. P. et al. Blood flow restriction: how does it work? **Front Physiol**, v. 3, p. 392, 2012c.

LOENNEKE, J. P. et al. Blood flow restriction reduces time to muscular failure. **European Journal of Sport Science**, v. 12, n. 3, p. 238-243, 2012d.

LOENNEKE, J. P. et al. The anabolic benefits of venous blood flow restriction training may be induced by muscle cell swelling. **Med Hypotheses**, v. 78, n. 1, p. 151-4, Jan 2012e.

LOENNEKE, J. P. et al. Effects of cuff width on arterial occlusion: implications for blood flow restricted exercise. **European journal of applied physiology**, v. 112, n. 8, p. 2903-2912, 2012f.

LOENNEKE, J. P. et al. Blood flow restriction pressure recommendations: a tale of two cuffs. **Front Physiol**, v. 4, p. 249, 2013a.

LOENNEKE, J. P. et al. Blood flow restriction: the metabolite/volume threshold theory. **Med Hypotheses**, v. 77, n. 5, p. 748-52, Nov 2011a.

LOENNEKE, J. P. et al. The influence of exercise load with and without different levels of blood flow restriction on acute changes in muscle thickness and lactate. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, 2016.

LOENNEKE, J. P. et al. Effect of cuff type on arterial occlusion. **Clinical physiology and functional imaging**, v. 33, n. 4, p. 325-327, 2013b.

LOENNEKE, J. P. et al. Time under tension decreased with blood flow-restricted exercise. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 32, n. 4, p. 268-73, Jul 2012g.

LOENNEKE, J. P. et al. Low intensity blood flow restriction training: a meta-analysis. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 5, p. 1849-59, May 2012h.

LOENNEKE, J. P. et al. Potential safety issues with blood flow restriction training. **Scand J Med Sci Sports**, v. 21, n. 4, p. 510-8, Aug 2011b.

LOW, S.; RENNIE, M.; TAYLOR, P. Signaling elements involved in amino acid transport responses to altered muscle cell volume. **The FASEB journal**, v. 11, n. 13, p. 1111-1117, 1997.

LOWERY, R. P. et al. Practical blood flow restriction training increases muscle hypertrophy during a periodized resistance training programme. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 34, n. 4, p. 317-21, Jul 2014.

LU, T.-W. et al. Influence of muscle activity on the forces in the femur: an in vivo study. **Journal of Biomechanics**, v. 30, n. 11, p. 1101-1106, 1997.

MADARAME, H. et al. Cross-transfer effects of resistance training with blood flow restriction. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 2, p. 258-63, Feb 2008.

MADARAME, H.; SASAKI, K.; ISHII, N. Endocrine responses to upper- and lower-limb resistance exercises with blood flow restriction. **Acta Physiol Hung**, v. 97, n. 2, p. 192-200, Jun 2010.

MAHONEY, E. T. et al. Changes in skeletal muscle size and glucose tolerance with electrically stimulated resistance training in subjects with chronic spinal cord injury. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 86, n. 7, p. 1502-1504, 2005.

MAYNARD, F. M. et al. International standards for neurological and functional classification of spinal cord injury. **Spinal cord**, v. 35, n. 5, p. 266-274, 1997.

MAZESS, R. B.; WHEDON, G. D. Immobilization and bone. **Calcified Tissue International**, v. 35, n. 1, p. 265-267, 1983.

MCCALL, G. E. et al. Acute and chronic hormonal responses to resistance training designed to promote muscle hypertrophy. **Can J Appl Physiol**, v. 24, n. 1, p. 96-107, Feb 1999.

MCHENRY, C. L.; SHIELDS, R. K. A biomechanical analysis of exercise in standing, supine, and seated positions: Implications for individuals with spinal cord injury. **J Spinal Cord Med**, v. 35, n. 3, p. 140-7, May 2012.

MCHUGH, M. P. et al. Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect. **Sports Medicine**, v. 27, n. 3, p. 157-170, 1999.

MCPHERRON, A. C.; LEE, S.-J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 23, p. 12457-12461, 1997.

MEDICINE, A. C. O. S. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 41, n. 3, p. 687, 2009.

MILLER, F.; SIMS, D. E. Contractile elements in the regulation of macromolecular permeability. Federation proceedings, 1986. p.84-88.

MIRANDA, A. R.; HASSOUNA, H. I. Mechanisms of thrombosis in spinal cord injury. **Hematology/oncology clinics of North America**, v. 14, n. 2, p. 401-416, 2000.

MOHR, T. et al. Insulin action and long-term electrically induced training in individuals with spinal cord injuries. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 8, p. 1247-1252, 2001.

MORITANI, T.; MURO, M.; NAGATA, A. Intramuscular and surface electromyogram changes during muscle fatigue. **Journal of Applied Physiology**, v. 60, n. 4, p. 1179-1185, 1986.

MURPHY, E.; STEENBERGEN, C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury. **Physiological reviews**, v. 88, n. 2, p. 581-609, 2008.

NATSUME, T. et al. Effects of Electrostimulation with Blood Flow Restriction on Muscle Size and Strength. **Medicine and science in sports and exercise**, 2015.

NEUMAYER, C. et al. Hypertrophy and transformation of muscle fibers in paraplegic patients. **Artificial organs**, v. 21, n. 3, p. 188-190, 1997.

NOSAKA, K. et al. Muscle damage induced by electrical stimulation. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 10, p. 2427-37, Oct 2011.

NOSAKA, K. et al. Partial protection against muscle damage by eccentric actions at short muscle lengths. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 5, p. 746-53, May 2005.

NOSAKA, K. et al. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 9, p. 1490-5, Sep 2001.

OLIVE, J. L.; DUDLEY, G. A.; MCCULLY, K. K. Vascular remodeling after spinal cord injury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 6, p. 901-7, Jun 2003.

OZAKI, H. et al. Increases in thigh muscle volume and strength by walk training with leg blood flow reduction in older participants. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, p. glq182, 2010.

PATTERSON, S. D. et al. Circulating hormone and cytokine response to low-load resistance training with blood flow restriction in older men. **European journal of applied physiology**, v. 113, n. 3, p. 713-719, 2013.

PAULSEN, G.; MYKLESTAD, D.; RAASTAD, T. The influence of volume of exercise on early adaptations to strength training. **J Strength Cond Res**, v. 17, n. 1, p. 115-20, Feb 2003.

PEARSON, S. J.; HUSSAIN, S. R. A review on the mechanisms of blood-flow restriction resistance training-induced muscle hypertrophy. **Sports Med**, v. 45, n. 2, p. 187-200, Feb 2015.

PELLETIER, C. A.; HICKS, A. L. Muscle characteristics and fatigue properties after spinal cord injury. **Crit Rev Biomed Eng**, v. 37, n. 1-2, p. 139-64, 2009.

PERSEGHIN, G. et al. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a ¹H-¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. **Diabetes**, v. 48, n. 8, p. 1600-1606, 1999.

PIERCE, J. R. et al. Growth hormone and muscle function responses to skeletal muscle ischemia. **Journal of applied physiology**, v. 101, n. 6, p. 1588-1595, 2006.

PLOUTZ, L. L. et al. Effect of resistance training on muscle use during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 76, n. 4, p. 1675-1681, 1994.

RABISCHONG, E.; OHANNA, F. Effects of functional electrical stimulation (FES) on evoked muscular output in paraplegic quadriceps muscle. **Spinal Cord**, v. 30, n. 7, p. 467-473, 1992.

REEVES, G. V. et al. Comparison of hormone responses following light resistance exercise with partial vascular occlusion and moderately difficult resistance exercise without occlusion. **J Appl Physiol (1985)**, v. 101, n. 6, p. 1616-22, Dec 2006.

REGAN, M. A. et al. A systematic review of therapeutic interventions for pressure ulcers after spinal cord injury. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 90, n. 2, p. 213-231, 2009.

REINES, D. H.; HARRIS, R. C. Pulmonary complications of acute spinal cord injuries. **Neurosurgery**, v. 21, n. 2, p. 193-196, 1987.

REKAND, T.; HAGEN, E. M.; GRONNING, M. Spasticity following spinal cord injury. **Tidsskr Nor Laegeforen**, v. 132, n. 8, p. 970-3, Apr 30 2012a.

REKAND, T.; HAGEN, E. M.; GRØNNING, M. Chronic pain following spinal cord injury. **Tidsskrift for den Norske laegeforening: tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke**, v. 132, n. 8, p. 974-979, 2012b.

RENNIE, M. Claims for the anabolic effects of growth hormone: a case of the emperor's new clothes? **British journal of sports medicine**, v. 37, n. 2, p. 100-105, 2003.

RIBEIRO, A. S. et al. Resistance training promotes increase in intracellular hydration in men and women. **European journal of sport science**, v. 14, n. 6, p. 578-585, 2014.

RODGERS, M. M.; HOOKER, P. Musculoskeletal responses of spinal cord injured individuals to functional neuromuscular stimulation-induced knee extension exercise. **Journal of Rehabilitation Research and Development**, v. 28, n. 4, 1991.

ROSENBERG, J. G. et al. Reliability of panoramic ultrasound imaging to simultaneously examine muscle size and quality of the medial gastrocnemius. **Muscle & nerve**, v. 49, n. 5, p. 736-740, 2014.

ROTH, S. M. et al. Myostatin gene expression is reduced in humans with heavy-resistance strength training: a brief communication. **Experimental Biology and Medicine**, v. 228, n. 6, p. 706-709, 2003.

SAKAMAKI, M.; M, G. B.; ABE, T. Legs and trunk muscle hypertrophy following walk training with restricted leg muscle blood flow. **J Sports Sci Med**, v. 10, n. 2, p. 338-40, 2011.

SATO, Y. The history and future of KAATSU training. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2005.

SCHROEDER, E. T. et al. Are acute post-resistance exercise increases in testosterone, growth hormone, and IGF-1 necessary to stimulate skeletal muscle anabolism and hypertrophy? **Med Sci Sports Exerc**, v. 45, n. 11, p. 2044-51, Nov 2013.

SCREMIN, A. E. et al. Increasing muscle mass in spinal cord injured persons with a functional electrical stimulation exercise program. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 80, n. 12, p. 1531-1536, 1999.

SEYNNES, O. R.; DE BOER, M.; NARICI, M. V. Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 1, p. 368-373, 2007.

SEZER, N.; AKKUS, S.; UGURLU, F. G. Chronic complications of spinal cord injury. **World J Orthop**, v. 6, n. 1, p. 24-33, Jan 18 2015.

SHAW, J. A.; MURRAY, D. G. The relationship between tourniquet pressure and underlying soft-tissue pressure in the thigh. **J Bone Joint Surg Am**, v. 64, n. 8, p. 1148-1152, 1982.

SHIELDS, R. K.; DUDLEY-JAVOROSKI, S. Musculoskeletal adaptations in chronic spinal cord injury: effects of long-term soleus electrical stimulation training. **Neurorehabil Neural Repair**, v. 21, n. 2, p. 169-79, Mar-Apr 2007.

SJOGAARD, G.; SALTIN, B. Extra-and intracellular water spaces in muscles of man at rest and with dynamic exercise. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 243, n. 3, p. R271-R280, 1982.

SLADE, J.; BICKEL, C.; DUDLEY, G. The effect of a repeat bout of exercise on muscle injury in persons with spinal cord injury. **European journal of applied physiology**, v. 92, n. 3, p. 363-366, 2004.

SMITH, L. W.; SMITH, J. D.; CRISWELL, D. S. Involvement of nitric oxide synthase in skeletal muscle adaptation to chronic overload. **Journal of Applied Physiology**, v. 92, n. 5, p. 2005-2011, 2002.

SNIJDER, M. et al. Low subcutaneous thigh fat is a risk factor for unfavourable glucose and lipid levels, independently of high abdominal fat. The Health ABC Study. **Diabetologia**, v. 48, n. 2, p. 301-308, 2005.

SPIERING, B. A. et al. Elevated endogenous testosterone concentrations potentiate muscle androgen receptor responses to resistance exercise. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 114, n. 3, p. 195-199, 2009.

SPUNGEN, A. M. et al. Factors influencing body composition in persons with spinal cord injury: a cross-sectional study. **Journal of applied physiology**, v. 95, n. 6, p. 2398-2407, 2003.

SPUNGEN, A. M. et al. Soft tissue body composition differences in monozygotic twins discordant for spinal cord injury. **Journal of applied physiology**, v. 88, n. 4, p. 1310-1315, 2000.

SUZUKI, Y. J.; FORD, G. D. Redox regulation of signal transduction in cardiac and smooth muscle. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 31, n. 2, p. 345-353, 1999.

TAAFFE, D.; MARCUS, R. Dynamic muscle strength alterations to detraining and retraining in elderly men. **Clinical Physiology**, v. 17, n. 3, p. 311-324, 1997.

TAKADA, S. et al. Low-intensity exercise can increase muscle mass and strength proportionally to enhanced metabolic stress under ischemic conditions. **Journal of applied physiology**, v. 113, n. 2, p. 199-205, 2012.

TAKANO, H. et al. Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. **European journal of applied physiology**, v. 95, n. 1, p. 65-73, 2005.

TAKARADA, Y.; ISHII, N. Effects of low-intensity resistance exercise with short inter-set rest period on muscular function in middle-aged women. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 16, n. 1, p. 123-128, 2002.

TAKARADA, Y. et al. Rapid increase in plasma growth hormone after low-intensity resistance exercise with vascular occlusion. **J Appl Physiol (1985)**, v. 88, n. 1, p. 61-5, Jan 2000a.

TAKARADA, Y. et al. Rapid increase in plasma growth hormone after low-intensity resistance exercise with vascular occlusion. **Journal of Applied Physiology**, v. 88, n. 1, p. 61-65, 2000b.

TAKARADA, Y.; TAKAZAWA, H.; ISHII, N. Applications of vascular occlusions diminish disuse atrophy of knee extensor muscles. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n. 12, p. 2035-2039, 2000c.

TAKARADA, Y. et al. Effects of resistance exercise combined with moderate vascular occlusion on muscular function in humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 88, n. 6, p. 2097-106, Jun 2000d.

TAKARADA, Y. et al. Effects of resistance exercise combined with moderate vascular occlusion on muscular function in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 88, n. 6, p. 2097-2106, 2000e.

TAKARADA, Y.; TSURUTA, T.; ISHII, N. Cooperative effects of exercise and occlusive stimuli on muscular function in low-intensity resistance exercise with moderate vascular occlusion. **Jpn J Physiol**, v. 54, n. 6, p. 585-92, Dec 2004.

TAYLOR, K. et al. Effect of electrically induced muscle contractions on posttraumatic edema formation in frog hind limbs. **Physical therapy**, v. 72, n. 2, p. 127-132, 1992.

TESCH, P.; KARLSSON, J. Muscle fiber types and size in trained and untrained muscles of elite athletes. **Journal of Applied Physiology**, v. 59, n. 6, p. 1716-1720, 1985.

THANNICKAL, V. J.; FANBURG, B. L. Reactive oxygen species in cell signaling. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 279, n. 6, p. L1005-L1028, 2000.

THIEBAUD, R. S. et al. Muscle damage after low-intensity eccentric contractions with blood flow restriction. **Acta Physiol Hung**, v. 101, n. 2, p. 150-7, Jun 2014.

THIEBAUD, R. S. et al. Effects of low-intensity concentric and eccentric exercise combined with blood flow restriction on indices of exercise-induced muscle damage. **Interventional Medicine and Applied Science**, v. 5, n. 2, p. 53-59, 2013.

TIDBALL, J. G. Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration. **Compr Physiol**, v. 1, n. 4, p. 2029-62, Oct 2011.

TRENDELENBURG, A. U. et al. Myostatin reduces Akt/TORC1/p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 296, n. 6, p. C1258-C1270, 2009.

TRIOLO, R. J. et al. Selectivity of intramuscular stimulating electrodes in the lower limbs. **J Rehabil Res Dev**, v. 38, n. 5, p. 533-44, Sep-Oct 2001.

UCHIYAMA, S. et al. Relationship between oxidative stress in muscle tissue and weight-lifting-induced muscle damage. **Pflügers Archiv**, v. 452, n. 1, p. 109-116, 2006.

UMBEL, J. D. et al. Delayed-onset muscle soreness induced by low-load blood flow-restricted exercise. **European journal of applied physiology**, v. 107, n. 6, p. 687-695, 2009.

URSO, M. L. et al. Alterations in mRNA expression and protein products following spinal cord injury in humans. **The Journal of physiology**, v. 579, n. 3, p. 877-892, 2007.

VECHIN, F. C. et al. Comparisons between low-intensity resistance training with blood flow restriction and high-intensity resistance training on quadriceps muscle mass and strength in elderly. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 29, n. 4, p. 1071-1076, 2015.

VENTURELLI, M. et al. Passive leg movement - induced hyperaemia with a spinal cord lesion: evidence of preserved vascular function. **Acta Physiologica**, v. 210, n. 2, p. 429-439, 2014.

VERDIJK, L. B. et al. Reduced satellite cell numbers with spinal cord injury and aging in humans. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 12, p. 2322-30, 2012.

VICTOR, R. G.; SEALS, D. R. Reflex stimulation of sympathetic outflow during rhythmic exercise in humans. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 257, n. 6, p. H2017-H2024, 1989.

WATERS, R.; ADKINS, R.; YAKURA, J. Definition of complete spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 29, n. 9, p. 573-581, 1991.

WATSON, P. D.; GARNER, R.; WARD, D. S. Water uptake in stimulated cat skeletal muscle. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 264, n. 4, p. R790-R796, 1993.

WEBER, M. M. Effects of growth hormone on skeletal muscle. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 58, n. Suppl. 3, p. 43-48, 2002.

WEIR, J. P. Quantifying test-retest reliability using the intraclass correlation coefficient and the SEM. **J Strength Cond Res**, v. 19, n. 1, p. 231-40, Feb 2005.

WERNBOM, M. et al. Contractile function and sarcolemmal permeability after acute low-load resistance exercise with blood flow restriction. **European journal of applied physiology**, v. 112, n. 6, p. 2051-2063, 2012.

WESCHE, J. The time course and magnitude of blood flow changes in the human quadriceps muscles following isometric contraction. **J Physiol**, v. 377, p. 445-62, Aug 1986.

WEST, D. W. et al. Elevations in ostensibly anabolic hormones with resistance exercise enhance neither training-induced muscle hypertrophy nor strength of the elbow flexors. **J Appl Physiol** (1985), v. 108, n. 1, p. 60-7, Jan 2010a.

WEST, D. W.; PHILLIPS, S. M. Anabolic processes in human skeletal muscle: restoring the identities of growth hormone and testosterone. **The Physician and sportsmedicine**, v. 38, n. 3, p. 97-104, 2010b.

WOJTASZEWSKI, J. F. et al. Hypoxia and contractions do not utilize the same signaling mechanism in stimulating skeletal muscle glucose transport. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1380, n. 3, p. 396-404, 1998.

WOLFF, J. **The law of bone remodelling**. Springer Science & Business Media, 2012.

WYNDAELE, J. Neurogenic bowel management after spinal cord injury. **Spinal cord**, v. 48, n. 10, p. 717-717, 2010.

YANAGISAWA, O. et al. The use of magnetic resonance imaging to evaluate the effects of cooling on skeletal muscle after strenuous exercise. **European journal of applied physiology**, v. 89, n. 1, p. 53-62, 2003.

YARASHESKI, K. E. et al. Effect of growth hormone and resistance exercise on muscle growth in young men. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 262, n. 3, p. E261-E267, 1992.

YASUDA, T. et al. Venous blood gas and metabolite response to low-intensity muscle contractions with external limb compression. **Metabolism**, v. 59, n. 10, p. 1510-1519, 2010.

YASUDA, T. et al. Muscle fiber cross-sectional area is increased after two weeks of twice daily KAATSU-resistance training. **International Journal of KAATSU Training Research**, v. 1, n. 2, p. 65-70, 2005.

YASUDA, T. et al. Muscle activation during low-intensity muscle contractions with restricted blood flow. **J Sports Sci**, v. 27, n. 5, p. 479-89, Mar 2009.

YASUDA, T. et al. Effect of low-load resistance exercise with and without blood flow restriction to volitional fatigue on muscle swelling. **European journal of applied physiology**, v. 115, n. 5, p. 919-926, 2015a.

YASUDA, T. et al. Effects of detraining after blood flow-restricted low-intensity training on muscle size and strength in older adults. **Aging Clin Exp Res**, v. 26, n. 5, p. 561-4, Oct 2014.

YASUDA, T. et al. Influence of continuous or intermittent blood flow restriction on muscle activation during low-intensity multiple sets of resistance exercise. **Acta Physiol Hung**, v. 100, n. 4, p. 419-26, Dec 2013.

_____. Effects of short-term detraining following blood flow restricted low-intensity training on muscle size and strength. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 35, n. 1, p. 71-5, Jan 2015b.

YASUDA, T. et al. Effects of blood flow restricted low-intensity concentric or eccentric training on muscle size and strength. **Plos one**, v. 7, n. 12, p. e52843, 2012.

APÊNDICE 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, **Sérgio Luiz Ferreira Andrade** e **Eddy Krueger** estamos lhe convidando como voluntário a participar da pesquisa: EFEITOS DA ELETROESTIMULAÇÃO NEUROMUSCULAR COM RESTRIÇÃO DO FLUXO DE SANGUE NA ESPESSURA MUSCULAR E CONDUTIVIDADE PERIFÉRICA.

O motivo que nos leva a fazer esta pesquisa é a necessidade de se buscar métodos eficientes e seguros de eletroestimulação neuromuscular, com a finalidade de aumentar o tamanho dos músculos da coxa. A eletroestimulação é uma técnica que pode recuperar parte da massa muscular. Como a massa muscular consome energia em repouso, aumentos no tamanho dos músculos podem ajudar no controle da obesidade.

DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS: Com a eletroestimulação, você pode sentir um leve desconforto no abdome. Além disso, a intensidade da corrente pode causar uma vermelhidão na pele. Caso você seja alérgico, uma possível dermatite pode acontecer devido ao eletrodo.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada na coordenação da pós-graduação em Educação Física da Universidade Federal do Paraná.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome	Assinatura do participante	Data
Nome	Assinatura do pesquisador	Data
Nome	Assinatura da testemunha	Data

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

HOSPITAL DO
TRABALHADOR/SES/PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EFEITO DA ELETRO-ESTIMULAÇÃO NEUROMUSCULAR COM RESTRIÇÃO DO FLUXO DE SANGUE NA ESPESSURA MUSCULAR E NAS RESPOSTAS REFLEXAS EM PESSOAS COM LESÃO MEDULAR

Pesquisador: Sérgio Luiz Ferreira Andrade

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 48571315.4.0000.5225

Instituição Proponente: Hospital do Trabalhador/SES/PR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.474.654

Apresentação do Projeto:

aprovado

Objetivo da Pesquisa:

aprovado

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

aprovado

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

aprovado

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

aprovado

Recomendações:

aprovado

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

aprovado

Endereço: Avenida República Argentina nº 4406 - Bloco Centro de Estudos

Bairro: Novo Mundo

CEP: 81.050-000

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3212-5871

E-mail: cepht@sesa.pr.gov.br